AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK ZU BERLIN
Direktor: Prof. Dr. W. His, Geh. Med.-Rat

# Die experimentellen Untersuchungen am Frosch über die Kernverschiebung und deren Beziehung zu dem hämatopoetischen System

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
Doktorwürde in der gesamten Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Universität zu Berlin

vorgelegt von

Eugen Tischtschenko
aus Port Arthur

im Oktober 1930

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK ZU BERLIN
Direktor: Prof. Dr. W. His, Geh. Med.-Rat

# Die experimentellen Untersuchungen am Frosch über die Kernverschiebung und deren Beziehung zu dem hämatopoetischen System

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
Doktorwürde in der gesamten Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Universität zu Berlin

vorgelegt von

Eugen Tischtschenko
aus Port Arthur

im Oktober 1930

Tag der Promotion: - 1. Aug. 1931

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität zu Berlin

Dekan: Prof. Dr. Stoeckel

Referent: Prof. Dr. V. Schilling

Korreferent: Prof. Dr. W. His

Druck von August Pries in Leipzig

*Gewidmet*

*meiner lieben Mutter*

*vom dankbaren Sohn*

*Berlin 1928*

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/dieexperimentell0000unse

Aus der I. Medizinischen Klinik zu Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. W. His, Geh. med. Rat.)

# Die experimentellen Untersuchungen am Frosch über die Kernverschiebung und deren Beziehung zu dem hämatopoetischen System.

Von

**Eugen Tischtschenko** aus Port-Artur.

Mit 5 Textabbildungen und 3 Tafeln.

---

**Inhaltsverzeichnis.**

Vorwort.
Die Blutmorphologie des Frosches. Die Leuko-Lymphopoese.
Eigene Untersuchungen:
Die Behandlung der Tiere.
Hämozytodiagnostische Kriterien des Froschblutes.
Die Kernverschiebung.
Die blutbildenden Organe des Frosches und ihre Beziehung zu dem peripheren Blut.
Die Oxydasereaktion.
Versuch Nr. 1 bis Nr. 10.
Erklärung zu den Mikrophotogrammtabellen.
Literaturverzeichnis.
Mikrophotogrammtabellen (I—VII).

## Vorwort.

Die Angaben der Autoren über die Blutmorphologie des Frosches sind außerordentlich mannigfaltig; auch in der Frage über die Genese der Blutzellen dieses Tieres herrscht in der Literatur keine Einigkeit.

Insbesondere möchte ich hervorheben, daß die ontogenetische und phylogenetische Betrachtungsweise der Blutzellen des poikilotermen Tieres immer dazu führt, die Lymphozyten als eine Vorstufe der Leukozyten zu halten. Diese Betrachtungsweise und folglich auch Ansicht wird besonders von Weidenreich und Freidsohn, die eine ziemlich ausführliche Beschreibung der Blutmorphologie der niederen Tiere geben, vertreten. „... Bei den Amphibien", sagt Freidsohn in der Schlußfolgerung aus seiner Arbeit (5), „läßt sich also zeigen, daß Lymphozyten mit genau den gleichen Charakteren wie die der Säuger keineswegs differenzierungs- und weiterer Umformung unfähige Zellformen darstellen, sondern daß sie gerade die jugendlichen

Formen sind, die Ausgangsstadien der Entwicklung, sowohl in der Richtung der übrigen Leukozyten, wie auch der roten Blutkörperchen."

Der gleichen Ansicht ist auch Weidenreich (25).

„Die Lymphzelle, die auch schon bei niederen Tierformen ... auftritt, ist das eigentliche undifferenzierte leukozytäre Element, das nach Maßgabe der äußeren Entwicklungsbedingungen nach den verschiedenen Richtungen hin, speziell auch nach der der granulierten Formen, umwandlungsfähig ist und bleibt."

Zugunsten dieser These führt Freidsohn (5) seine Beobachtungen aus der Onthogenese und Phylogenese an und betont dabei, daß beide in vollkommenem Einklang zueinander stehen.

Als Stütze dafür, daß die Lymphozyten ontogenetisch die älteren Formen sind, versucht er den Beweis zu führen, daß die Zahl der Lymphozyten sich je nach dem Tieralter umgekehrt zu der Zahl der Leukozyten verhält. Bei jüngeren Tieren sollen die Lymphozyten, bei ausgewachsenen dagegen die polymorphkernigen Leukozyten überwiegen. Diese aus Beobachtung der Ontogenese gezogene Regel sei auch für die Phylogenese gültig.

„... Bei den in der Tierreihe tiefer stehenden Wirbeltieren zeigen im allgemeinen die Lymphozyten einen viel höheren Prozentsatz als bei den höher stehenden, speziell der Säuger. Sie sind also nicht nur ontogenetisch, sondern auch phylogenetisch die vorherrschende ältere Form der Blutzellen, d. h. die Ausgangsform ihrer Entwicklung."

Aus derselben Gruppe von Autoren ist noch Müller (14) zu erwähnen, dessen Schlußwort folgendermaßen lautet: „Aus den vorliegenden Darstellungen ergibt sich, daß wir für die Entwicklung der geformten Elemente des Froschblutes nicht zwei getrennte Entwicklungsreihen annehmen können, sondern daß in einer bestimmten Art von Zellen der Ausgangspunkt, sowohl für die roten, wie auch für die weißen Blutkörperchen gegeben ist, und damit ist auch nachgewiesen, daß die roten Blutkörperchen Abkömmlinge der weißen sind, denn die Bildungsreihe der roten nimmt ihren Ausgang von den Leukoblasten, heranwachsenden teilungsreifen, runden Zellen, die wir als weiße Blutkörperchen bezeichnen müssen. Dieselben Zellen produzieren aber andererseits auch wieder Leukozyten als Tochterzellen."

Was nun den hämatopoetischen Apparat der niederen Tiere, insbesondere des Frosches anbelangt, so ist Neumann (16) der einzige, der die Bildung der Leukozyten ausschließlich ins Knochenmark verlegt; er fügt aber hinzu, daß der Reifungsprozeß der Knochenmarkselemente, der besonders die Entwicklung der Erythrozyten aus den Spindelzellen betrifft, sich vorwiegend im peripheren Blute vollzieht, was ihn veranlaßt, „eine strikte Lokalisation" der Hämatopoese im Knochenmark abzuleugnen.

„. . . bei höheren Wirbeltieren besteht eine strikte Lokalisationsstelle des ganzen Blutbildungsprozesses im Knochenmark," schreibt Neumann (16), „was für den Frosch keine Gültigkeit hat."

Sehr eingehend beschreibt C. Marquis (zit. nach Neumann) das Knochenmark des Frosches. Leider beschreibt er es vorwiegend als „Funktionsorgan", nicht aber als Produktionsstelle für eine bestimmte Zellklasse; dazu fehlt noch eine feinere Differenzierung der Knochenmarkselemente. Er unterscheidet schlechthin ein Fettmark und ein lymphoides Mark, das nur Erythrozyten als Abkömmlinge der Spindelzellen (Hayems Hämatoblasten), die in dem Endothel der Knochenmarkkapillaren ihre Entstehung haben sollen, produziert. Die Bildung von Leukozyten sucht er vielmehr in die perivaskulären Lymphräume bzw. Lymphgefäße oder in die Lymphoidenlager der Darmwandung zu verlegen.

Pappenheim (18) vertritt die Auffassung, daß die niederen Wirbeltiere neben der hoch differenzierten Milz noch ein myeloides Gewebe besitzen, dessen Lokalisationsstelle „extraostal" zu suchen ist. Das extraostale Myeloidgewebe soll ein gemischtzelliges Retikulärgewebe sein, das, wie das Myeloidgewebe der höheren Vertebraten, Lymphozyten und Myelozyten produziert, wobei die ersten als Vorstufen der letzten zu betrachten sind.

„Es ist", äußert er sich ferner, „nachgewiesen worden, daß es wohl Tiere ohne Myelozyten, aber nicht solche ohne Lymphozyten gibt, daß somit Lymphozyten als die einfachsten und primitivsten Leukozyten überall bei den niederen Tieren in Retikulärgewebe gebildet werden."

Die Untersuchungen Maximows (13) über die Entwicklung der Blutzellen bei Selachiern und Amphibien lassen ihn zu folgendem Schluß kommen: „Das Knochenmark der Anuren ist ein universales Blutbildungsorgan und funktioniert erythro-granulo-lympho-plasmatisch. Die Erythropoese geschieht ausschließlich intravaskulär, die Granulopoese extravaskulär, während gleichwertige indifferente Lymphozyten sowohl innerhalb, wie außerhalb der Gefäße existieren und wuchern. Es gibt keine scharf abgegrenzten lymphoiden Organe mit ausschließlicher Produktion von Lymphozyten und andere mit ausschließlicher Produktion von Granulozyten."

Nach Angaben von Drzewine (zit. nach Neumann) sind die blutbildenden Organe der niederen Tiere von indifferentem Charakter. Sie sagt: „La formation des globules blancs qui chez les Vertébrés supérieurs, suivant l'opinion classique, est répartie entre les ganglion-lymphatiques (qui donnent naissance aux éléments lymphogènes) et la moelle osseuse (lieu d'origine des éléments granulés) s'exerce chez les Ichtyopsides dans le même organe."

Aus diesem kurzen Überblick über die Angaben einiger Autoren ersehen wir, daß sie den Lymphozyt des Frosches in verschiedenen hämatopoetischen Geweben finden und ihm demnach eine Pluripotenz beimessen.

Es drängt sich nun die Frage auf, ob man die einzelnen Blutzellen des Frosches etwas genauer analysieren kann, d. h. ob jedes Blutkörperchen, sowohl das reife, wie auch das unreife, wie es beim Menschen der Fall ist, seine eigenen charakteristische Merkmale besitzt, und ob man diese Merkmale für die Deutung einer vielleicht unter gewissen Bedingungen vorhandenen Kernverschiebung auswerten könnte.

Die Weidenreichsche Frage (25): „Welche ungranulierte kleine Zelle mit großem, rundem Kern und schmalem basophilem Plasmasaum wäre dann bei den Amphibien z. B. Myeloblast und welche Lymphozyt" hoffe ich, in dieser Arbeit in bezug auf den Frosch beantworten zu können.

Bevor ich aber auf die Beantwortung dieser Frage eingehe, möchte ich noch die Ansichten einiger Autoren über die Blutmorphologie des Frosches anführen.

## Die Blutmorphologie des Frosches.

### Die Leuko-Lymphopoese.

Meine Untersuchungen des Blutes der mir zur Verfügung stehenden beiden Froscharten, Rana temporaria und Rana esculenta ließen mich zu dem Schluß kommen, daß in der Blutmorphologie dieser beiden Tiergattungen kein Unterschied besteht.

Die nächstfolgenden Literaturangaben von Grünberg, Werzberg, Niegelewski, Dekhuyzen und Freidsohn glauben jedoch eine Differenz feststellen zu können und zwar nicht nur in der Klassifizierung einzelner Zellarten, sondern auch in den diesen zukommenden Charakteristika.

So unterscheidet Grünberg (7) im Blute der Rana temporaria vier Zellklassen.

1. Einkernige Leukozyten mit sehr großem Kern ohne Granula.
2. Einkernige Mastzellen mit basophilem Granula.
3. Große einkernige Übergangsformen ohne Granula.
4. Große Leukozyten mit fragmentierten bzw. mehreren Kernen.
   a) ohne Granula,
   b) mit eosinophilen Granula.

In der ersten Gruppe unterscheidet er große und kleine Formen; die letzteren sind so groß wie der Durchmesser des Erythrozytenkerns, die ersten zweimal so groß wie jene. Der Kern ist groß und exzentrisch gelagert.

Unter den Mastzellen findet er verschiedene Zellgrößen. Die größten gleichen den größten Zellen der eben beschriebenen Gruppe.

Der Kern ist groß, rund oder eingebuchtet, liegt meist zentral. Die Granula sind rund und von verschiedener Größe.

Die dritte Gruppe ist der ersten Gruppe ähnlich und selten zu beobachten; das Zytoplasma erscheint etwas voluminöser, der meistens nierenförmige Kern liegt exzentrisch, färbt sich heller als der der ersten Gruppe. Im Plasma kommen nicht selten Vakuolen vor.

Die vierte Gruppe unterscheidet sich von den vorigen dadurch, daß der Zelleib etwas breiter und die Kerne stark polymorph erscheinen. Die Lappen sind meistens miteinander verbunden.

Nach Werzberg soll die Rana temporaria sieben Zellklassen besitzen, die jedoch, wie wir sehen werden, in bezug auf ihre morphologischen Merkmale und in ihrer biologischen Wertung von der Rana Esculenta gewisse Abweichungen zeigen. Er führt folgende Zellklassen an:

1. Ausschließlich einkernige Mastzellen, und zwar unterscheidet er lymphozytiforme, rundliche und histioide mehr ovaläre Gebilde mit feinen rötlich-violett gefärbten Granula.
2. Eosinophile Leukozyten, die beim gesunden Exemplar ausschließlich polymorph, beim amputierten demonstrativ mononukleär erscheinen, wobei die Zahl der eosinophilen Leukozyten beim amputierten Tier erheblich steigt. Die Granula sind rund und dunkelrosa gefärbt (May-Giemsa-Färbung).
3. Große mononukleäre Leukozyten (Lympholeukozyten). Der Kern erscheint bald oval, bald nierenförmig gebuchtet, oder nimmt eine unregelmäßige Form an; manchmal sieht man im Plasma zerstreute Pigmentkörper. Plasma-Kern-Struktureigenschaften siehe Rana Esculenta. Diese Gruppe soll in erheblicher Masse beim amputierten Tier vorhanden sein, beim gesunden bedeutend weniger.
4. Polymorphkernige und polynukleäre Spezialzellen. Alle Einzelheiten in bezug auf funktionelle und strukturelle Eigenschaften siehe Rana Esculenta.
5. Kleine und mittelgroße Lymphozyten. Diese Elemente sind in besonders großer Anzahl vorhanden, werden aber beim amputierten Exemplar geringer.
6. Typische leukozytoide Lymphozyten. Diese besitzen schwach basophiles Protoplasma, das ziemlich oft mit feiner azurophiler Granulation versehen ist.
7. Großlymphozyten — die Zellgruppe, die auffallend zahlreich beim amputierten Tier auftritt und alle Übergänge zu polychromatischen Normoblasten zeigen soll. „Beim gesunden Exemplar", schreibt Werzberg, „überwiegen also an Zahl die polymorphkernigen und polynukleären Leukozyten, beim amputierten die einkernigen Gruppe 2, 3, 7". „Im Vergleich mit den Resultaten von Grünberg entspricht:

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| die | Gruppe | 1 | von | Grünberg | unserer | 4 | (vermutlich auch 3) |
| „ | „ | 2 | „ | „ | „ | 1 | |
| „ | „ | 3 | „ | „ | „ | 5 | und 6 |
| „ | „ | 4a | „ | „ | „ | 7 | |
| „ | „ | 4b | „ | „ | „ | 2 | |

Die im Blute von Rana esculenta vorhandenen sieben Zellklassen versieht Werzberg mit folgenden Charakteristika:

1. Einkernige Mastzellen, die mehr oder weniger runde, dunkel-violett gefärbte Granula besitzen.

2. Eosinophile. Hier soll beim älteren Tier die polymorphkernige, beim jüngeren dagegen die mononukleäre Art vorherrschen.
3. Große mononukleäre Leukozyten. (Lympholeukozyten). Der Kern liegt exzentrisch und ist eingekerbt (beim jüngeren Tier massenhaft). Diese Gruppe scheint nach Werzberg direkt in die nächste überzugehen.
4. Polymorphkernige und polynukleäre ungekörnte Leukozyten. Sie unterscheiden sich von der Gruppe 3 nur durch etwas stärker oxyphiles Plasma. Sie treten reichlich beim alten Tier auf.
5. Kleine und mittelgroße Lymphozyten. Der Kern ist rund und groß. Seine Lage ist bald eine zentrale, bald eine exzentrische. Er nimmt fast die ganze Zelle ein.
6. Leukozytoide Lymphozyten. Hier unterscheidet Werzberg größere und kleinere Zellen. Die Kerne liegen exzentrisch. „Das Zytoplasma zeigt ziemlich dichtes basophiles Spongioplasma oft mit sehr schön ausgesprochener Azurgranulation, die stellenweise mehr oder weniger ausgebildet ist."
7. Großlymphozyten, wobei Werzberg wiederum die großen von den kleinen trennt. Sie werden beobachtet in großer Anzahl bei dem jüngeren Tier. Sie sind rund und schmalleibig und besitzen einen fein strukturierten azur-rötlichen Kern. „Diese Zellen," fügt er hinzu, „erscheinen gelegentlich auch als myeloblastische (Naegeli) Reizungszellen."

Somit sehen wir, daß die beiden Froscharten nach Werzberg ein und dieselben Blutelemente besitzen, die aber nicht ganz dieselben morphologischen Merkmale aufweisen (s. besonders die Gruppen 6 und 7), daß jedoch trotz der Verschiedenheit der Tierarten (denn Werzberg trennt diese scharf) die Blutelemente des kranken Exemplars (der Rana temporaria) und die des jüngeren (der Rana esculenta) einerseits, was besonders die Gruppen 2, 3, 7 anbelangt, und das Blut des gesunden Exemplars (der Rana temporaria) und das des älteren (der Rana esculenta) andererseits, von „gleicher biologischer Wertung zu beurteilen sind", was mir nicht ganz klar zu sein scheint.

Im Gegensatz zu der Werzbergschen Klassifizierung unterscheidet Niegolewsky (zit. nach Werzberg) nur vier Zellklassen:

1. oxyphil
2. basophil
3. neutrophil

} granulierte Leukozyten.

4. Lymphozyten mit verschiedener Granula.

Beachtenswert ist, daß sie nach Ehrlich, wie Niegolewski angibt, nur mononukleär auftreten, aber auch polynukleär sind. Die Kerne sind miteinander verbunden. In der zweiten Gruppe unterscheidet er 3 Formen.

a) Beinahe runde Zellen, die einen ovalen, von Granula freien Kern besitzen. Granula sind klein.
b) Zellen mit größeren Granula, die den Kern überlagern.
c) Metachromatisch basophil granulierte Zellen, die sich mit Methylenblau nicht blau, sondern stark violett färben. Die Granula sind größer als bei der ersten Gruppe. Auf neutrale Farbstoffe reagieren sie nicht und sind „also als eine Abart der basophilen zu bezeichnen". Die neutrophilen Zellen sind oval und zeigen einen gelappten oder polynukleären Kern. Die vierte Gruppe wird von Lymphozyten, rundlichen Elementen mit zentralem Kern und mit „ziemlich groben Granula" versehenen Plasma, vertreten.

Einer einfachen aber nicht genügend übersichtlichen Klassifizierung unterzieht Dekhuyzen das Blut des Frosches (zit. nach Freidsohn), der nur drei Arten von weißen Blutkörperchen unterscheiden will:

1. feinkörnige Leukoblasten und Leukozyten
2. eosinophile „ „ „
3. Mastzellen.

Die feinkernigen Leukoblasten sollen jugendliche Elemente, die mit einem kugeligen Kern und einem schmalen Protoplasma ausgestattet sind, die feinkörnigen Leukozyten ältere Formen mit polymorphen und polynukleären Kernen und reichlichem amöboidem Protoplasma repräsentieren. Die Leukoblasten sollen allmählich unter Polymorphwerden in die Leukozyten übergehen. Die strukturellen Verhältnisse unter den eosinophilen Leukoblasten und Leukozyten sind den eben beschriebenen annähernd identisch.

Die Mastzellen kommen selten vor und werden durch ihre violett gefärbten kugeligen oder stäbchenförmigen Granulationen charakterisiert.

Zum Schluß füge ich noch die Klassifizierung des Froschblutes nach Freidsohn hinzu. Da er darüber aber ziemlich umfangreiche und mehr oder minder übersichtliche Angaben macht, so möchte ich sie wörtlich wiedergeben. Dekhuyzen (zit. nach Freidsohn).

Er teilt die weißen Blutkörperchen des Frosches ein: in:

1. feinkörnige Leukoblasten und Leukozyten,
2. eosinophile „ „ „
3. Mastzellen.

Als feinkörnige Leukoblasten bezeichnet er die Jugendformen mit kugeligem Kern und schmalem Protoplasmasaum, also die Lymphozyten der Autoren. Unter feinkörnigen Leukozyten versteht er die ältere Form mit polymorphen und polynukleären Kernen und reichlichem amöboidem Protoplasma. Der Kern der jüngsten Leukoblasten soll chromatinreich sein, er soll immer mehr polymorph und vielfach dreilappig werden. Die Leukoblasten gehen in das Leukozytenstadium über. Die eosinophilen Leukoblasten und Leukozyten stehen in Hinsicht der Kernstruktur den feinkörnigen Leukoblasten und Leukozyten nahe.

Mastzellen kommen sehr spärlich vor; sie zeichnen sich durch ihre violett gefärbten, dicht gedrängten, kugeligen oder stäbchenförmigen Granulationen aus. Freidsohn (5).

Er unterscheidet granulierte und ungranulierte Leukozyten.

a) *Ungranulierte Leukozyten.*
   1. Kleine lymphozytäre Form.
   2. Große lymphozytäre Form.
   3. Polymorphkernige Leukozyten.
   4. Kleine längsovale Zellen mit ovalem Kern, die Spindelzellen der Autoren.

b) *Granulierte Leukozyten.*
   1. Eosinophile (grobgranulierte) Leukozyten.
   2. Mastleukozyten (basophile Leukozyten).
   3. Pigmentleukozyten; eine bei den Säugetieren im Blut fehlende Form.

Dekhuyzen hat im Froschblute kleine lymphozytäre Formen gefunden, bezeichnet sie aber als „feinkörnige Leukoblasten", Grünberg als „kleiner Leukozyt".

Die größere Form der lymphozytären Elemente kommt im Amphibienblut viel weniger häufig vor als die kleinere. Sie stellt eine runde, aber größere Zelle dar. Der Kern ist entweder rund, groß und zentral gelegen, oder aber mehr länglich und dann oft mehr oder weniger exzentrisch; seine Struktur weist ein deutliches Chromatingerüst auf. Der Plasmaleib ist größer als bei der kleineren Form, von wechselnder Größenentfaltung und zeigt in den zentralen Partien hellere Stellen, während der Rand meist stärker basophil ist (anscheinend meine Promyelozyten). Allerdings gibt es solche Zellen, deren Plasma überall

nur schwach basophil gefärbt ist (meine schwach basophile Gruppe). Diese Zellen werden von den Autoren nicht besonders berücksichtigt, sondern entweder einfach den Lymphozyten zugerechnet, oder auch den ganz großen Formen — den polymorphkernigen (feingranulierten) Leukozyten. Diese Zellen entsprechen in ihrem morphologischen Verhalten den großen Lymphozyten der Säuger. Die „polymorphkernigen Leukozyten" der Amphibien sind große Zellen. Der Kern ist entweder kompakt hantel- oder hufeisenförmig oder gelappt und zwar zwei-, drei- oder mehrlappig. Seine Lage ist stets eine exzentrische. Die Struktur des Kernes zeigt weder im kompakten noch im gelappten Zustande irgendwelche Besonderheiten. Die Lappen sind von verschiedener Form und Größe: in einigen Fällen ist der Beginn der Lappung eben erst angedeutet, der Kern ist hantelförmig, in anderen Fällen sind die Lappen nur durch dünne Chromatinfäden miteinander verbunden.

1. Die granulierten Zellen sind große Zellen. Ihr Kern ist bei den in der Zirkulation zur Beobachtung gelangten Formen meist deutlich gelappt, in der Mehrzahl zeigt er zwei Lappen, sehr selten kommen drei oder mehr vor. Die Lappen sind von verschiedener Größe und haben kugelige, ovale oder unregelmäßige Form; entweder sind sie durch breite Kernsubstanzen miteinander verbunden, oder aber sie hängen nur noch durch dünne Chromatinfäden zusammen. Die Lage des Kernes ist meist exzentrisch.

2. Die Mastleukozyten stellen meistens runde oder ovale Zellen dar und finden sich häufig als kleine, oft auch große Formen. Der Kern ist stets groß und einfach kompakt, sehr selten gelappt. Der einfache Kern ist meistens rund, manchmal beiderseits eingebuchtet, oder er weist eine längliche Figur auf; stärkere Ausbuchtungen sind häufig, es finden sich dann zwei oder drei Kerne. Lappenbildungen werden niemals beobachtet. Was die Kernstruktur angeht, so tritt das Chromatingerüst mehr oder weniger deutlich hervor.

3. Die Pigmentzellen sind von verschiedener Größe. Manchmal sind sie von lymphozytärem Charakter: sie sind rund, der Kern ist groß. Das Plasma bildet nur einen breiten Hof um den Kern und ist dicht mit Granulationen gefüllt. Die großen Pigmentzellen zeigen entweder den Typus der großen lymphozytären Formen oder den der polymorphkernigen Leukozyten. Das Plasma dieser Zellen ist schwach basophil und enthält oft nur wenige Granula von verschiedener Größe, unter denen neben runden auch längliche oder ovale Formen vorkommen. Die Pigmentleukozyten mit gelappten Kernen sind große Zellen; der Kern ähnelt also durchaus in seinem Verhalten den Kernen der polymorphkernigen Leukozyten.

## Die Erythropoese.

Beim Entwicklungsmodus der Erythrozyten unterscheidet Freidsohn neun Stadien. Den Lymphozyt betrachtet er als Ausgangspunkt der Entwicklung der Erythrozyten, der das erste Stadium darstellt.

Stadium 1. In diesem Stadium ist die Zelle klein und rund, ihr Kern ist groß und nimmt den größten Teil des Zelleibes ein, seine Form ist rundlich, oft an einer Seite leicht eingedellt. Er färbt sich gleichmäßig, so daß von einer besonderen Umordnung des Chromatins nichts zu erkennen ist. Das Plasma umgibt den Kern als sehr schmaler Hof, der bei Giemsafärbung gefleckt und schwach blau erscheint.

Stadium 2. Hier ist der Saum etwas breiter geworden und enthält überall schollige, stark basophile Ansammlungen, färbt sich also im ganzen intensiver blau. Der Kern ist im großen und ganzen unverändert, nur enthält er einige hellere Stellen, die auf Auflockerung hindeuten.

Stadium 3. Die Zelle wird deutlich größer, und zwar hat sowohl der Plasmasaum wie der Kern an Umfang zugenommen. Der Kern ist noch rund und zeigt ab und zu noch leichte Eindellungen; das Gerüstwerk des Kernes erfährt eine Ausbildung insofern, daß es mit chromatinfreien Stellen versehen wird. Das Plasma bildet jetzt einen breiten, gleichmäßigen Ring um den Kern und färbt sich gleichmäßig und intensiv blau.

Stadium 4. Die Zelle hat an Umfang zugenommen, ohne aber die runde Form noch merklich zu ändern. Der Kern ist im allgemeinen rundlich, nur seine Umgrenzung ist unregelmäßig; die chromatische Gerüststruktur ist undeutlich ausgeprägt. Der Protoplasmasaum ist breiter und hat bei Giemsafärbung einen grünlichen Einschlag — die Hämoglobinbildung hat begonnen. Das Plasma ist nun aber nicht mehr gleichmäßig, sondern mehr oder weniger fleckig.

Stadium 5. Die Zelle ist nicht mehr rund, sondern schon leicht oval. Der Kern ist noch rund und sein Chromatin stellt ein grobes Gerüst dar. Der Protoplasmasaum ist breiter, färbt sich weniger blau und stärker grün und zeigt dieselbe Beschaffenheit wie im Stadium 4.

Stadium 6. Die Zelle hat an Größe zugenommen, ihre ovale Form ist nun ausgeprägter als im vorhergehenden Stadium. Der Kern streckt sich in die Länge und geht so aus der runden Form in die ovale über, während das Chromatingerüst im großen und ganzen unverändert bleibt. Das Plasma stellt jetzt eine breite Zone dar und färbt sich etwas heller grün, die blaue Beifarbe schwindet allmählich; der fleckige Charakter ist unverändert.

Stadium 7. Die Zelle hat an Größe weiter zugenommen und die Form der fertigen Erythrozyten erreicht. Der Kern ist nun auch deutlich oval, seine Kontur unregelmäßig, das Chromatingerüst erscheint etwas verklumpt. Das Protoplasma ist auch breiter geworden und färbt sich heller grün; auch jetzt sind noch Flecken vorhanden.

Stadium 8. Die Zelle erreicht beinahe den ausgebildeten Zustand der roten Blutkörperchen; sie ist jetzt noch größer geworden und ist von vollständig ovaler Form. Der Kern ist langgestreckt, unregelmäßig umgrenzt und sein Chromatingerüst weiter zusammengedrängt. Das Protoplasma ist sehr breit und färbt sich nur grünlich-gelb.

Stadium 9. Dieses Stadium wird endlich durch das rote Blutkörperchen repräsentiert, wie man es bei allen Amphibien findet, das Plasma nimmt hier bei Giemsafärbung einen geblich-grünen Ton an.

Nach Werzberg (26) vermehren sich die Erythrozyten der Amphibien homophyletisch (durch Teilung) und heterophyletisch durch metaplastische Neubildung aus farblosen Vorstufen. Diese Vorarten sind nach Pappenheim die lymphozytären Großlymphozyten, nach Neumann und Marquis die Spindelzellen.

Nach Pappenheim entsteht also die Art der Normozyten:

a) durch fortgesetzte Teilung aus Megaloblasten. Hier sind dann ihre eben entstehenden Jugendformen stets orthochromatisch, erst rund, großkernig, später gestreckt mit kleinem Stäbchenkern,
b) durch metaplastisch differenzierende Umwandlung aus Großlymphozyten erst in rundovale Hb-freie Hämoblasten, dann ebenfalls in gestreckte orthochromatische kleinkernige Normozyten.

## Eigene Untersuchungen.

### Die Technik.

#### Die Behandlung der Tiere.

Als Untersuchungsobjekte standen mir Rana esculenta und Rana temporaria zur Verfügung. Die Untersuchungen wurden im Winter angefangen und erstreckten sich über das Frühjahr in den Sommer hinein.

Zur Anfertigung der Blutausstriche wurde der Bluttropfen aus der Zunge entnommen. Ich möchte diese Art der Blutentnahme ganz besonders empfehlen, da es nur durch eine solche gelingt, Blut wieder-

holt ohne stärkere Nachblutungen zu erhalten. Die Entnahme aus der Zehe erwies sich wegen der eben erwähnten Nachblutungen und einer Verzögerung des Blutaustrittes mit konsekutiver Beschleunigung der Gerinnung und Beimischung von unerwünschtem Gewebssaft als ungeeignet. Ich ging immer so vor, daß ich nach sorgfältiger Reinigung und Trocknung der Zunge mit einer feinen Schere die Endverzweigung irgendeines Gefäßes anschnitt. Die Blutung stand fast immer auf Kompression. Zur Wiederholung der Blutentnahme genügte es häufig, die Wundstelle kräftig abzureiben. Irgendwelche quantitative oder qualitative Differenzen bei Blutentnahmen aus verschiedenen Körperstellen konnte ich trotz wiederholter Kontrolle nicht wahrnehmen.

Zur Reizung des hämatopoetischen Systems und zur Erzeugung einer Kernverschiebung wurden den Tieren Reizkörper (Terpentinöl, Caseosan), hormonale Stoffe (Thyreolutal) und Bakteriensuspension (Koli) injiziert. Die Dosierung dieser Mittel gebe ich genau bei den Versuchsprotokollen an. Zur Verstärkung des Reizes und zur Kontrolle der Wirkung irgendeines Mittels wurden diese häufig kombiniert. Was die Reaktion der Tiere auf das eine oder andere Mittel anbelangt, so muß darauf hingewiesen werden, daß Sommerfrösche als Versuchsobjekte geeigneter sind, indem sie den gesetzten Reiz besser vertragen.

Gegen verschiedene von mir noch außerdem angewandte Mittel, wie z. B. Protasin und die Kultur vom Streptococcus haemolyticus, erwiesen sich die Frösche als resistent. Phenylhydrazin rief starke Anämie, aber keine Kernverschiebung hervor. Das Thyreolutal versagte bei manchen meiner Tiere.

Außer den eben beschriebenen Mitteln habe ich einige Tiere der Splenektomie unterworfen. Die Operation verlangt eine sorgfältige Ausführung, führt aber bei richtiger Technik in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zu vollem Erfolg. Die von mir angewandte Technik lasse ich hier kurz folgen:

Das Tier wird mit dem Rücken nach unten auf dem Brett aufgespannt, wobei darauf zu achten ist, daß die Extremitäten nicht allzu straff angezogen und nicht mit Stecknadeln, sondern mit Bindfaden befestigt werden; die Narkose wird mit Äther ausgeführt und darf nur ganz oberflächlich sein. Der 3—4 cm lange Schnitt wird am besten mit der Schere nach Spaltung der Haut dicht am mittleren Drittel der Bauchmuskelplatte parallel ihrem Rande angelegt. Ob man dazu die rechte oder linke Seite wählt, ist gleichgültig, nur muß die Topographie genau beachtet werden, da sonst größere Gefäße verletzt werden können.

Mit einer anatomischen Pinzette zieht man auf ein Stück bereitliegenden Zellstoffes den Darm, beim Weibchen auch die Laiche aus der Bauchhöhle heraus und sucht die Milz auf, die gewöhnlich in der

Mittellinie, nahe der Abgangsstelle des Darms vom Magen als kleines, linsen- bis erbsengroßes rundliches Gebilde von purpurroter Farbe verborgen liegt. Nach Unterbindung des Gefäßstieles mit Seide erfolgt die Exstirpation der Milz und die sorgfältige Versorgung der Operationswunde mit Etagennähten. Bei der Schnittführung muß auf die Lunge geachtet werden, die mitunter, stark gebläht, hervorgepreßt wird. In solchen Fällen muß die Lunge mit Zellstoff vorsichtig hochgedrängt werden. Der ganze Eingriff soll möglichst rasch ausgeführt werden. Die Sommerfrösche überstehen den Eingriff im allgemeinen besser als die Winterfrösche.

**Die angewandten Fixations- und Färbungs-Methoden.**

Für die Fixierung der angefertigten Objektträgerausstriche gebrauchte ich:

1. Methylalkohol bzw. MAY-GRÜNWALD-Lösung.
2. Hitzefixation (EHRLICH).
3. Dampffixation (PAPPENHEIM), in der Modifikation von GORDON (6). Tinkt. jodi 3,0; Formalin 1,0. Dabei wurden sowohl trockene (24 Std. nach Anfertigung des Ausstriches) als auch feuchte Ausstriche fixiert. Bei dieser Fixikationsmethode wurde so vorgegangen, daß die Mischung in eine Kammer (Petrischale mit Fließpaper) getan, und auf zwei seitliche Erhebungen das Präparat mit der Schicht nach unten gelegt wurde. Fixiert wurde bis zum Gelbwerden, wonach das Jod durch Alkohol entfernt wurde.

Für die Färbung wurden benutzt:

1. Färbung nach GIEMSA bzw. MAY-GRÜNWALD-GIEMSA nach PAPPENHEIM.
2. Alkalisierte GIEMSA-Färbung. Es wurden dem zur Färbung verwandten Wasser zwei Tropfen Natr. carbon., 1% auf 50 ccm Aq. dest. zugesetzt.
3. Triazidfärbung (EHRLICH).
4. Färbung nach UNNA-ZIEHL: Auf 10 ccm Aq. dest. 10 Tropfen Karbolfuchsin + 10 Tropfen polychromes Methylenblau. Die Kerne sämtlicher Blutzellen erscheinen blauviolett, das Plasma tiefrosa.
5. Methylgrün-Pyronin-Färbung:
   3 Teile Methylgrün und zwei Teile Pyronin auf 10 ccm Aq. dest.-Lösung leicht angewärmt. Färbungsdauer 10—15 Minuten.
   Alle Kerne violett bis blaugrün, alles oxyphile Plasma gelblich. Das Plasma der Lymphozyten und das derjenigen Zellen, die noch basophile Substanzen enthalten, erscheint rot oder weist einen roten Rand auf.
   Für die Differenzierung der Zellen ist diese Färbung ungeeignet, denn alle die Zellen, die reich an Spongioplasma sind, d. h. sowohl die unreifen weiterer Differenzierung fähigen, als auch die differenzierungunfähigen Zellen, die stets ihren basoplasmatischen Zustand beibehalten, besitzen das gleiche tinktorielle Verhalten.

Oxydasereaktion.

Zur Oxydasereaktion bediente ich mich der Methode nach GRAHAM.

Die lufttrockenen, frischen Ausstriche werden mit Formalinalkohol (95% Alkohol 9 Teile, Formalin 1 Teil) 4—5 Minuten fixiert. Nachdem gut mit Wasser abgespült ist werden sie mit Peroxydasereagenz (Naphtol 1,0; Alkohol 40% 100,0; $H_2O_2$ 0,2) 4—5 Minuten behandelt. Nochmaliges Abspülen mit Wasser. Danach Färbung mit Pyroninlösung (Pyronin 0,1; 40% Alkohol 96,0; Anilinöl 4,0) 4—5 Minuten, Abspülen mit Wasser und kurzes Nachfärben mit 0,5%iger

wässeriger Methylenblaulösung (Grübler B. X.), 10—15 Sekunden (je nach Färbkraft). Die Reaktion wurde sowohl an Blutausstrichen als auch an den Tupfpräparaten der Milz und denen des Knochenmarkes vorgenommen. Die Kerne erscheinen blau, das Plasma aller reaktionsfähigen Zellen färbt sich entweder diffusrot oder weist rötliche körnige Massen auf.

## Hämozytodiagnostische Kriterien des Froschblutes.

Nach sorgfältigem Studium der morphologischen Kriterien der Blutzellen sowohl der Winter- als auch der Sommerfrösche, und unter Berücksichtigung der biologischen Ergebnisse der Kernverschiebung bin ich zu der Auffassung gekommen, daß der Lymphozyt und der Leukozyt unbedingt zwei verschiedenen hämozytogenetischen Systemen angehören müssen. Diese meine Auffassung wurde noch bekräftigt durch die Untersuchungsergebnisse an Tupfpräparaten von Milz und Knochenmark unter Heranziehung der Oxydasereaktion. Ich unterscheide demnach streng zwischen lymphatischem und myeloischem System.

*Die Lymphozyten* (das lymphatische System).

Sie treten in großer, mittelgroßer und kleiner Generation auf. Von den kleinen Lymphozyten möchte ich noch eine Generation unterscheiden, nämlich die Zwergform. Das Plasma aller oben genannten Formen ist meistens von himmelblauer Farbe. Das Stützgerüst ist in den Lymphozyten nicht erkennbar. Manchmal, besonders in den großen Lymphozyten, ist die Peripherie stärker basophil, man sieht dann um den Kern einen perinuklearen Hof. Bei den Zwergformen besitzt das Plasma stets, im Gegensatz zu den anderen Lymphozyten, pseudopodienartige Fortsätze, die schon von Dujardin (zit. nach L. Gordon) als „Excroissances sarcodiques" beschrieben worden sind. Gewöhnlich sind die Zwergformen in spärlicher Anzahl vorhanden. Bei Reizzuständen nehmen sie beträchtlich zu.

Der Kern ist ensprechend dem Plasmaleib relativ groß, seiner Form nach vorwiegend rund, oval, manchmal leicht eingebuchtet. Zwergformen besitzen stets einen kreisrunden Kern. Die Kernstruktur ist grob, unregelmäßig angeordnet und zeigt keine Tendenz zur weiteren inneren Differenzierung. Es sei noch erwähnt, daß man gelegentlich im Plasma paraplasmatische Produkte, die azurroten „Stipchen" (Plasmosomen von Wolf-Ferrata) findet. Was die Nucleoli anbelangt, so findet man sie in den lymphatischen Elementen ziemlich selten.

*Myeloisches System.*

| | |
|---|---|
| Basophile<br>Eosinophile<br>„Neutrophile" | Leukozyten |

*Basophile.*

Ich fand große und kleine, runde und mehr ovale Formen. Das Plasma sieht man fast nie, denn es ist mit intensiv azurrot, oder basisch sich färbenden Granula dicht überdeckt. Lösen sich diese auf, so erscheint das Plasma rötlich oder schwach basophil gefärbt. Der Kern ist rund oder oval, selten eingebuchtet. In den ovalen Zellen ist seine Lage immer eine exzentrische. Seine Struktur ist schwer differenzierbar.

*Eosinophile.*

Man findet mittelgroße und kleine Eosinophile. Die letzten sind nur unter pathologischen Verhältnissen vorhanden.

Das Plasma ist farblos oder hellblau und mit groben kugelrunden Granula ausgefüllt, die sich normalerweise tinktoriell wie das Hämoglobin verhalten.

Der Kern ist segmentiert oder fragmentiert und deutlich gefeldert.

In einer Ausschwemmung jugendlicher myeloischer Formen findet man häufig unreife Eosinophile. So sieht man nicht selten, daß parallel mit einer regenerativen Verschiebung innerhalb der „neutrophilen" Gruppe Eosinophile ausgeschwemmt werden, die auffallende Merkmale der Jugendlichkeit aufweisen (s. Phot. Nr. 2). Den Zustand der Unreife erkennt man daran, daß das Plasma an Basophilie zunimmt, der Kern zum Rundwerden neigt, wobei er plump, wurstförmig oder nierenförmig wird, die Kernstruktur, die in den reifen Formen eine Differenzierung zeigt, noch verwaschen, saftig ist und die Granula schmutzig goldfarben, mit einer basischen Komponente untermischt, erscheinen (s. Phot. Nr. 1c, Nr. 2d, Nr. 7, Nr. 11). Bei ganz jugendlichen Elementen, d. h. in Zellen mit rundlichem Kern und basophilem Plasma, sind sie sogar nicht nur von einer schmutzigen Farbe, sondern klein und spärlich. Es handelt sich dabei offenbar um die rudimentären Granula, wie sie von Naegeli (15) beschrieben worden sind. Die eosinophilen Granula verdienen besonderes Interesse insofern, als man an lymphoiden Zellen ihre allmähliche Entwicklung beobachten kann. So sieht man im Plasma der lymphoiden Zellen spärlich verteilte, kleine, runde, bald schmutzigfarbene, bald mehr oder minder goldgelbe Granula sich entwickeln. Sie sind in der Arbeit von Freidsohn (5) bei Besprechung des Entwicklungsmodus der roten Blutkörperchen beschrieben. Er sieht in diesen Granulationen, auf die er verschiedene Plasmafarben zurückführt, den Beginn der Hämoglobinbildung. Inwiefern einerseits die Freidsohnschen Beobachtungen, andererseits die meinen zugunsten einer Verwandtschaft dieser Granulationen mit Hb. bzw. mit eosinophilen Granula sprechen, ist insofern schwierig zu entscheiden, als die Beziehung des Hb. zu den eosinophilen Granula ein bis jetzt noch ungelöste Problem darstellt. Was ich in der

Hinsicht beobachten konnte, ist die Tatsache, daß diese lymphoiden Zellen, deren Plasma mit obenerwähnten Granula versehen war, nur bei einer Regeneration des weißen Blutbildes zur Beobachtung gelangen, wobei sie dann in größerer Menge im Knochenmark gefunden werden (s. Phot. Nr. 8 b, Nr. 9, Nr. 11). Deshalb glaubte ich, diese Zellen als junge Elemente der eosinophilen Gruppe bezeichnen zu müssen. Auf weitere Beobachtungen über die jugendlichen Eosinophilen komme ich noch zurück (s. Knochenmark).

*Die „neutrophilen" Leukozyten.*

Die Bezeichnung „neutrophile Leukozyten" kann beim Frosch nur mit Vorbehalt gebraucht werden, denn diese Zellen besitzen keine eigentlichen Spezialgranula. Manche Autoren behaupten, eine Granulation gesehen zu haben. Sie geben aber nicht an, ob es kleine neutrophile $\Sigma$ (feinkörnige) oder $B$ grobkörnige Granula waren. Anscheinend hatte es sich dabei um dieselben Granulationen gehandelt, die Werzberg (26) in seinen leukozytoiden Lymphozyten als azurrot bezeichnet.

Aus meinen Untersuchungen glaube ich folgern zu müssen, daß die „Neutrophilen" weder $\Sigma$ noch $B$ Granulation besitzen. Auf Triazidfärbung reagieren sie negativ, wobei überhaupt keine Körnchen nachweisbar sind. Was den rötlichen Schimmer anbetrifft, der bald nur in der Gegend der Sphärenstelle (Zentrotheke) oder an der Zellperipherie einer lymphoiden Zelle zum Vorschein kommt, bald das ganze Plasma anscheinend reifer Zellen ausfüllt, so glaube ich auf Grund meines Studiums, daß es sich dabei um nichts anderes als um eine passagere Erscheinung handelt, die nichts mit einer Granulation zu tun hat, und zwar um eine besondere Reaktion des Plasmas, die noch weiterer Erklärungen bedarf. Diese eigentümliche Reaktion, die scheinbar auf die besondere Affinität des Zellplasmas zu den saueren Stoffen zurückzuführen ist, tritt nur bei Regeneration des Blutes auf und zwar dann, wenn das Tier weitgehend anämisch wird. Eine weitere interessante Tatsache bestand darin, daß in ein- und demselben Präparat solche Zellen stellenweise in herdförmiger Anordnung gefunden wurden. An anderen Stellen wiesen genau dieselben Zellen jedoch nur eine geringe oder gar keine Reaktion auf. Schließlich gesellte sich noch ein gleichfalls interessanter Befund hinzu, der sich dadurch dokumentierte, daß die obenerwähnten Herde mit Herden von Erythrozyten alternierten, deren Kerne im Gegensatz zu der üblichen Färbung ein tinktorielles Verhalten zeigten, das dem Plasma der in Rede stehenden Leukozyten entsprach. Es fiel gleichzeitig auf, daß diese eigenartig gefärbten Kerne immer gequollen waren. Da diese Erscheinung außerhalb des mich bei meinen Untersuchungen leitenden Fragenkomplexes lag, bin ich nicht näher auf sie eingegangen. Ich möchte hier nur meine Ansicht über die eben beschriebenen Reaktionen der Leukozyten und Erythro-

zyten kurz streifen, um bei der Besprechung der einzelnen Zelle dieser Gruppe und z. T. auch der unreifen Formen des myeloischen Systems, nicht mehr darauf zurückkommen zu müssen. Dieses herdartige Auftreten einer tinktoriellen Besonderheit im Plasma der Leukozyten und in den Kernen der Erythrozyten, das immer durch eine mit Anämie einhergehende Regeneration bedingt wird, möchte ich folgendermaßen erklären: Dem entnommenen Bluttropfen wird, wie es sich in der Tat leicht beobachten läßt, viel Gewebssaft beigemischt, der wahrscheinlich aus den Gewebsspalten herstammt. Dieser verteilt sich ungleichmäßig auf dem Objektträger, bringt die Zellen zur Quellung und schafft dadurch stellenweise andere Reaktionsbedingungen, die denjenigen analog zu sein scheinen, die bei Zusatz von Alkali entstehen. Der Gewebsaft dringt in die Zellen und bewirkt in dem Plasma der Leukozyten und in den Kernen der Erythrozyten eine Affinität für sauere Farbstoffe. Man sieht dann bald das ganze Plasma, bald nur seine Stützsubstanz (Spongioplasma) einen rötlichen Schimmer annehmen. Am auffälligsten ist dieser rötliche Schimmer in den Leukozyten dort, wo das Plasma vom basophilen Spongioplasma bereits frei ist. Am Kern der Erythrozyten dagegen kann man diese Erscheinung zwischen den basophilen Chromatinklümpchen auftreten sehen. Der Kern erscheint intensiv azurrot gefärbt, untermischt mit basophilem Chromatin. Es ist natürlich möglich, daß der Gewebsaft auf die festen Bestandteile des Blutes auf irgendeine andere Art einwirkt, daß aber seine enorme Beimischung zum entnommenen Bluttropfen nicht ganz bedeutungslos für das tinktorielle Verhalten der darin suspendierten Blutkörperchen ist, unterliegt m. E. keinem Zweifel. Zur Stützung dieser meiner Ansicht möchte ich noch hinzufügen, daß die beschriebene Erscheinung weder im peripheren Blute des nicht vorbehandelten Tieres, noch in normalen, gut angefertigten Tupfpräparaten des Knochenmarkes und in solchen der Milz beobachtet werden konnte. Als andere Begründung der erwähnten tinktoriellen Erscheinung könnte man die eigene Aktivität des Zellchemismus anführen. Es ist möglich, daß die Zelle in einem gewissen Reifungszustande reich an basischen Komponenten ist, die vorübergehend für sauere Farbstoffe besonders empfindlich sind, dann aber im nachfolgenden Zustande der Reifung verschwinden. Allerdings würde man damit das herdartige Auftreten nicht erklären. Jedenfalls sah ich die Zellen, die diese eigentümliche rötliche, zuweilen azurrote Färbung des Spongio- bzw. des gesamten Plasmas aufwiesen, als pathologische Elemente an und reihte sie dementsprechend einer noch weiter unten zu besprechenden Gruppe ein.

Die Pappenheimsche Auffassung (18) (19), wonach bei Amphibien die eigentlichen Spezialzellen fehlen und durch große polymorphe Lymphoidzellen vertreten werden, scheint mir nicht ganz zutreffend

zu sein. Unter einer Lymphoidzelle pflegen wir eine indifferente Stammzelle mit morphologischem Charakter eines Lymphozyts, aber mit Differenzierungsfähigkeit (Naegeli) zu verstehen. Solange diese Zelle lymphoid bleibt, können wir nicht entscheiden, ob sie sich zu einer Spezialzelle differenzieren wird. Wir dürfen sie trotzdem nur als unreife Vorstufen der myeloischen Reihe auffassen, wofür ich bei der Kernverschiebung des Froschblutes eine Bestätigung gefunden zu haben glaube. Die reifen polymorphkernigen Zellen des Froschblutes scheinen, trotz Fehlens der Granula, die Neutrophilen zu vertreten, besitzen ein nicht lymphoides Plasma und sind oxidasepositiv. Eine normale Lymphoidzelle ist nie polymorphkernig. Ich gebe zu, daß beim Frosch Zellen gefunden werden, deren Plasma sich noch in einem basophilen Zustande befindet, deren Kern aber schon polymorph ist. Solche Zellen treten insbesondere bei Reizzuständen auf, sind aber nicht als Vertreter der Spezialzellen, sondern, wie ich aus meinen Beobachtungen der Kernverschiebung folgern zu müssen glaube, als atypische myeloische Zellen zu werten. Ich habe diese Zellen, wie ich noch weiter unten zu begründen Gelegenheit haben werde, schlechthin als „Inkongruenzzellen" bezeichnet.

Ich habe in meiner Arbeit vorausgesetzt, daß die polymorphen Leukozyten des Froschblutes den Neutrophilen des menschlichen Blutes entsprechen. Als Grund meiner Voraussetzung führe ich folgende zwei Faktoren an: 1. weisen sie dieselbe Mannigfaltigkeit des Kernpolymorphismus auf und 2. besitzen sie dieselben biologischen Eigenschaften. Das letztere scheint mir daraus hervorzugehen, daß sie a) am empfindlichsten auf chemotaktische Reize reagieren, b) unter pathologischen Verhältnissen immer die Zellen sind, die „die Kampfphase" (V. Schilling (22)) auszufechten haben und c) oxydasepositiv sind, was auf das Vorhandensein proteolytischer Fermente hinweist. Ich möchte nicht die Oxydasereaktion mit Sicherheit auf oxydasehaltige Fermente zurückführen, denn „die Oxydasereaktion und proteolytische Fermentwirkung ist nicht stets kombiniert", wie H. Hirschfeld mit Recht hervorhebt (40).

Das sind die wesentlichsten Anhaltspunkte, die mich veranlaßt haben, die granulafreien polymorphen Leukozyten des Frosches als „Neutrophile" anzusehen. Bevor ich aber auf die Beschreibung dieser Gruppe und der unreifen Elemente des myeloischen Systems eingehe und mein Einteilungsprinzip der Zellen klarlege, muß ich noch einige Überlegungen vorausschicken. Wir wissen, daß die äußere und die innere Differenzierung der myeloischen Zellen der höheren Wirbeltiere annähernd parallel verläuft, wobei sich die Kernform je nach dem Differenzierungszustande der Zelle ändert. Dieser Prozeß verläuft folgendermaßen: mit Abnahme der Plasmabasophilie wird der Kern allmählich polymorph. Seine Struktur wird gleichzeitig umorganisiert,

indem das Parachromatin aus dem Kern austritt und das basophile Chromatin sich verdickt. Dadurch erhält die Kernstruktur ein gefeldertes Aussehen und wird kompakter. Zum Schluß erscheint der Kern segmentiert und das Plasma oxyphil und mit Granulationen ausgefüllt. Es besteht hier eine gewisse Regulation der gesamten Zellreifung. Solbad aber diese Regulation durch irgendwelche Einflüsse gestört wird, geht die Differenzierung der Zelle anormal vor sich, so daß schließlich in die Blutbahn Zellen ausgeschwemmt werden, die z. B. ein jugendliches, deutlich blaues Protoplasma, keine Granula, aber einen segmentierten Kern, oder oxyphiles Plasma, jugendlichen Kern und fehlende Granula besitzen können. Wir sprechen dann von einer Inkongruenz der Kern- und Protoplasmareifung. Es würde dies im menschlichen Blut z. B. einer myeloischen Zelle entsprechen, die einen segmentierten Kern, eine jugendliche Kernstruktur und einen lymphoiden Plasmazustand besitzen würde; wir würden eine solche Zelle zu den „atypischen" (V. Schilling) rechnen und als eine pathologische Erscheinung werten dürfen. Da beim Menschen solche Atypien so gut wie niemals aufzutreten pflegen, läßt sich der Alterszustand einer Zelle immer mit einer gewissen Sicherheit bestimmen. Arneth (1) hat als erster die verschiedenen, im peripheren Blute zu beobachtenden Zellen in ein Schema gebracht und dadurch die Lehre von der „Kernverschiebung" begründet. Als ausschlaggebend für die Beurteilung des Kernalters betrachtete Arneth die Zahl der Kernsegmente. Die ununterbrochene Reihe von Altersstufen beginnt nach Arneth mit einem runden Kern, der dann eine seichte (W) und später eine tiefe (T) Bucht bekommt und schließlich in einzelne Segmente, deren Zahl mit dem Alter der Zelle wächst, zerfällt. Diese Grundregel seiner Lehre wurde aber bald durch Arbeiten von Pappenheim (zit. nach Hammerschlag) und Naegeli erschüttert, denen der Beweis gelang, daß polynuklleäre Leukozyten mit ungleicher Zahl von Segmenten gleich alt sein können. Die Gegner Arneths (Naegeli, Türk, V. Schilling) vertreten (ibidem) die Ansicht, daß die Alterung der Kerne ihren Ausdruck in einer Destruktion und Pyknose des Chromatins findet. Somit sehen wir, daß bei der Einteilung der Leukozyten zwei Prinzipien der Altersbeurteilung in Betracht gezogen wurden: Kernformwandel und Chromatin. Wenn man die Zytodiagnostik des Frosches eingehend und aufmerksam studiert, so kommt man zu der Überzeugung, daß die regulatorischen Vorrichtungen, die zur kontinuierlichen und allmählichen Reifung der Zelle notwendig sind, hier nicht so fein sind, wie wir es eben bei den Säugetieren gesehen haben. Als Folge davon finden wir eine Diskrepanz zwischen der äußeren und inneren Differenzierung der Zelle. Sie verlaufen fast unabhängig voneingnder, so daß es leicht zu Inkongruenzerscheinungen kommt. Man sieht dabei nicht nur eine solche der Kern- und Plasmareifung, wie es bei dem Menschen der Fall

ist, sondern es gesellt sich dazu noch eine auffallende Inkongruenz zwischen der Kernform und der Plasmareifungsstufe. Es gelang mir, zwei verschiedene Inkongruenztypen zu beobachten. Bei dem einen handelt es sich um eine Inkongruenz zwischen Kernstruktur und seiner Form, bei dem anderen um eine solche zwischen Kernform und dem Plasmazustand. Dem ersten Typus möchte ich keine wesentliche Bedeutung zuschreiben. Er war fast immer in den Zellen des zweiten Typus mit vertreten. Was diesen zweiten Typus anbetrifft, so fanden sich z. B. folgende Zellen vor: a) runder Kern mit ziemlich ausdifferenzierter Kernstruktur, Plasma bald reif, bald unreif, b) polymorpher Kern von kompakter Beschaffenheit, Plasma basophil (die Kernstruktur ist jugendlich oder mitunter ausdifferenziert). Ferner beobachtete ich Zellen, die den „Jugendlichen" oder den „Stabkernigen" des menschlichen Blutes entsprachen, deren Plasma aber basophil oder reif war. Bei allen von mir angestellten Versuchen konnte ich die gleichen Inkongruenzerscheinungen wahrnehmen. Ich habe den Eindruck gewonnen, daß das Mißverhältnis zwischen der Kernform und dem Plasmazustand dem die Kernverschiebung auslösenden Reiz parallel verläuft. So sehen wir dementsprechend eine Blutregeneration oft mit einem „atypischen Blutbild", d. h. mit einem, in dem die Zahl der „Inkongruenzzellen" eine auffallend hohe ist, einhergehen. Die eben beschriebenen atypischen Zellen machten es unmöglich, in der Zellentwicklung eine kontinuierliche Reihe aufzustellen, die man als eine gesetzmäßige betrachten könnte. Aus diesem Grunde ließ sich das Einteilungsprinzip der myeloischen Zellen, das V. Schilling für das menschliche Blut vorgeschlagen hat, nicht durchführen. Sie wurde auch durch die Mannigfaltigkeit der Kernform erschwert. Indem ich die, m. E. mit der Kernverschiebung in Zusammenhang stehenden, Atypien vorweggenommen habe, hoffe ich, das weiter unten folgende Einteilungsprinzip verständlich machen zu können. Als Kriterien der Zellreifung nahm ich in erster Reihe den Plasmazustand an. Nach diesem habe ich die Zellen in drei Gruppen eingeteilt: in eine stark basophile (lymphoide), eine schwach basophile (gelegentlich pseudoamphophile) und eine plasmatisierte. In jeder Gruppe unterschied ich vier Stadien der Kernform und hob für jede Gruppe noch die „Inkongruenzzellen" hervor. Da das Plasma mannigfaltige Variabilität sowohl in tinktorieller als auch in seiner Strukturbeschaffenheit aufwies, war es nicht ganz leicht, zu entscheiden, welcher Plasmazustand vollkommener Reifung entsprach. Da aber die nicht zu Versuchen benutzten Frösche Blutzellen besaßen, die entweder mit klarem, ziemlich farblosem Plasma, oder mit deutlichen feinen basophilen Netzchen oder Strichen (Spongioplasmareste!) versehen waren, so betrachtete ich diesen Plasmazustand als den der absoluten Reifung und bezeichnete solche Zellen als „plasmatisierte". Bei der Regeneration werden

diese Zellen verdrängt. An ihre Stelle tritt eine andere, schwach basophile oder gelegentlich als pseudoamphophil erscheinende Gruppe, die folgende charakteristische Merkmale besitzt: das Zellplasma sieht spongiös aus, ist aber viel schwächer basophil und läßt noch ein mehr oder minder gleichmäßig verteiltes feines Spongioplasmagerüst und oft die Zentrosphäre erkennen; in anderen Fällen ist es schwach basophil und mit einem intensiven rötlichen bis azurroten Schimmer untermischt, so daß es an eine Amphophilie (Kombination von basophilem Spongioplasma und oxyphilem Paraplasma) denken läßt. Ich halte für unnötig, auf diese scheinbare Amphophilie einzugehen, da ich sie bereits oben abgehandelt habe. An dritter Stelle führte ich die stark basophile, lymphoide Gruppe an. Das Spongioplasma ist hier intensiver basophil und dichter als bei der vorhergehenden. Zuweilen sieht man im Plasma eine vom Spongioplasma freiwerdende Stelle (charakteristisch für Promyelozyt), die meistens farblos erscheint, nur selten „pseudoamphophil". Was die Plasmabreite anbetrifft, so schwankt sie je nach dem Alter und der Generationsgröße der Zellen. Was den Kern der myeloischen Zellen in bezug auf seinen Reifungsgrad anbelangt, so kann ich mich mit den Freidsohnschen Ausführungen keinesfalls solidarisch erklären. Nach Freidsohn (5) sind die gelapptkernigen Leukozyten der Amphibien große Zellen, deren Kern weder im „kompakten", noch im „gelappten" Zustande irgendwelche Besonderheiten zeigt (?). Die experimentelle Verschiebung und das Knochenmarksbild zeigten aber, daß der rundliche und der segmentierte Kern durchaus keine gleiche Kernstruktur besitzen. Die dem menschlichen Myeloblasten entsprechende Stammzelle der myeloischen Reihe hat eine lockere, saftige Kernstruktur, wobei das Chromatin regelmäßig netzförmig angeordnet ist. Die segmentierten Leukozyten weisen hingegen eine kompakte Kernstruktur auf. Man kann das verdichtete Chromatin vom Parachromatin gut unterscheiden. Die einzelnen Übergangsstufen der Reifung lassen sich gut verfolgen: man sieht in der Tat den Kern allmählich an Substanz einbüßen (Parachromatinaustritt) und schließlich die Differenzierung so weit fortschreiten, bis der Kern gefeldert erscheint. Die bei Reizzuständen ausgeschwemmte Makrogeneration weist oft eine Abweichung insofern auf, als z. B. ein gelapptkerniger Leukozyt eine jugendliche Kernstruktur beibehält. Ich möchte die Vermutung aussprechen, daß Freidsohn bei seinen Untersuchungen, bei denen er in den Stadien der Kerngestaltung keine Besonderheiten erblickte, und die eben beschriebenen Abweichungen scheinbar als das Normale beurteilte, es mit einer Verschiebung, bei der gerade diese großen gelapptkernigen Leukozyten ausgeschwemmt wurden, zu tun gehabt hat.

Was die Kerngestalten anbelangt, die eine Kette von Übergängen in der myeloischen Reihe darstellen könnten, so unterschied

ich schematisch vier Stadien: Stammzelle, Übergangszelle, Vorsegmentierte und Segmentierte.

*Stammzelle.* Der Kern der Stammzelle kann rund oder oval sein. Die ovalen Kerne können zentral oder exzentrisch gelegen sein. Der Kern ist je nach der Generation der Zellen entweder relativ groß, den ganzen Zelleib ausfüllend, oder relativ klein, was meistens in Zellen der schwach basophilen oder plasmatisierten Gruppe der Fall ist.

*Übergangszelle.* Die Form des Kernes ist leicht eingebuchtet, bald plump wurst-, bohnen-, nierenförmig, bald der Form eines Embryo ähnlich. Die Lage des Kernes ist so gut wie immer eine exzentrische.

*Vorsegmentierte.* Diese Zelle steht der Kernform nach zwischen der „Übergangszelle" und der „Segmentkernigen". Man findet bei dieser Zellart die stärkste Kernvariabilität ausgebildet und zwar:

a) Der Kern besitzt eine Andeutung einer Segmentierung, die sich durch etwas hellere Streifen oder Rinnen innerhalb der Kernsubstanz bemerkbar macht.

b) Der Kern ist eingekerbt, bizzar, kleeblattartig.

c) Der Kern hat eine etwas schlankere Stab-, Wurst-, Hantel-, Ringform. Manchmal sind bereits Segmente ausgebildet, die jedoch nicht durch Fäden, sondern durch breite Kernbrücken miteinander verbunden sind. Die Lage des Kernes ist unbeständig.

*Segmentkernige.* Die Kerne bestehen aus einzelnen Segmenten, die durch feine Fäden miteinander verbunden sind. Mitunter ist ihre Zahl sehr hoch (bis zu 10 und darüber). Die gelegentlich von mir beobachteten Kerne, deren Segmente absolut keine Verbindungsfäden besaßen, die „pseudopolynukleären Leukozyten", rechne ich zu den Segmentierten, denn es handelt sich m. E. um eine durch Überstreckung des Kernes bedingte Zerreißung der Verbindungsfäden.

Wir finden in der genetisch jüngsten der von mir aufgestellten drei Zellgruppen, in der stark basophilen Gruppe immer nur die Stammzelle und Übergangszelle, in der schwach basophilen Gruppe Übergangszellen und Vorsegmentierte, in der plasmatisierten Gruppe Vorsegmentierte und Segmentierte. Ich unterscheide also beim Frosch je nach dem Reifezustand des Plasmas und der Kernform sechs verschiedene Zellarten:

| I. | | II. | |
|---|---|---|---|
| Stark bas. (lymphoide) Gruppe | | Plasmatisierte (reife) Gruppe | |
| Stammzelle | Übergangszelle | Vorsegmentierte | Segmentierte. |
| Schwach basophile Gruppe. | | | |
| III. | | | |

Wenn wir weiter bedenken, daß wir es oft mit einem „atypischen Blutbilde" zu tun haben, so können wir dies Schema, das eine einiger-

maßen kontinuierliche „Übergangskette" von unreifen „Stammzellen" bis zur vollkommen differenzierten „Segmentkernigen" darstellt, durch ein anderes Schema, aus dem nun ersichtlich wird, daß in jeder Gruppe je zwei Inkongruenzzellen vorkommen können, folgendermaßen vervollständigen:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Stark basophile (lymphoide) Gruppe | I. | Stammzelle, Übergangszelle, Vorsegmentierte, Segmentierte | Inkongruenzzellen I | (häufig) | S. Phot. Nr. 1e |
| | | | | (selten) | S. Phot. Nr. 3d |
| Schwach basophile Gruppe | II. | Stammzelle, Übergangszelle, Vorsegmentierte | Inkongruenzzelle II | (selten) | S. Phot. Nr. 3b |
| | | Segmentierte | Inkongruenzzelle II | (häufig) | S. Phot. Nr. 3d |
| Plasmatisierte (reife) Gruppe | III. | Stammzelle, Übergangszelle | Inkongruenzzellen III | (selten) | S. Phot. Nr. 2a, |
| | | | | (häufig) | 2b, 3a, 2k, 4a |
| | | Vorsegmentierte, Segmentierte | | | |

Daß diese eingefügten „Inkongruenzzellen" nicht etwa als normales Übergangsstadium in der Reifung bzw. der Alterung der myeloischen Zellen zu betrachten sind, scheint mir auch daraus hervorzugehen, daß sie:

a) vor der Behandlung (jeweilige Blutzusammensetzung!) und während der Regeneration des Blutes absolut fehlen können;

b) bei einer Linksverschiebung immer in geringer Anzahl aufzutreten pflegen;

c) in nicht gereiztem Knochenmark stets fehlen.

Sie gewinnen insofern Bedeutung, als aus ihrer Anwesenheit gewisse Schlüsse auf einen Reizzustand des hämatopoetischen Apparates gezogen werden können. Es muß jedoch bemerkt werden, daß ich bei der quantitativen Beurteilung des Blutes die Typen der Inkongruenzzelle nicht unterschied. Bei der Bewertung der Kernverschiebung bezeichnete ich sie dagegen als Inkongruenzzelle I (stark basophile Gruppe), II (schwach basophile Gruppe) und III (plasmatisierte Gruppe) (s. oben).

Wenn ich meine Zellbezeichnungen mit denen in der Hämatologie des Menschen üblichen analogisieren würde, so entspräche nach dem Reifezustand:

| | | meine | dem | |
|---|---|---|---|---|
| Stark basophile Gruppe | I. | Stammzelle | Myeloblasten | S. Phot. u. Tafelerklärungen |
| | | Übergangszelle | Promyelozyten | |
| Schwach basophile Gruppe | II. | Übergangszelle | Myelozyten | |
| | | Vorsegmentierte | Jugendlichen | |
| Plamatisierte Gruppe | III. | Vorsegmentierte | Stabkernigen | |
| | | Segmentierte | Segmentkernigen | |

Zum Schluß möchte ich hinzufügen, daß ich mit Hilfe dieses einigermaßen schematischen Einteilungsprinzipes die einzelnen Verschiebungsphasen vergleichsweise konstatieren und die dabei auftretenden Inkongruenzzellen als pathologische Zeichen verwerten konnte.

*Die Phagozyten (monozytoider Typus).*

Diese Zellen treten immer als Makro- oder Mikrophagen da auf, wo es sich um eine Bakterieämie, eine Einverleibung von artfremden Stoffen, oder um einen starken Kernzerfall, wie er bei einigen degenerativen Verschiebungen zu sehen ist, handelt. Ich möchte die Frage, ob diese Zellen mit menschlichen Monozyten identisch sind, offen lassen. Auch ihre Bildungsstätte ließ sich nicht streng lokalisieren. Sie sind leicht mit unreifen myeloischen Elementen zu verwechseln, da sie häufig monozytoiden Promyelozyten ähneln (s. Phot. Nr. 2 A). Wenn die morphologischen Merkmale gut ausgeprägt sind, so lassen sie sich folgendermaßen charakterisieren: Der Kern ist immer groß, eingebuchtet, meist exzentrisch gelegen, manchmal plump segmentiert; die Kernstruktur erscheint mondfleckenähnlich beschaffen; das Plasma ist voluminös, vakuolisiert und kann andere Blutkörperchen, Kernreste, Mikroorganismen, Pigmentstoffe und andere undifferenzierbare Einschlüsse enthalten. Besonderes Interesse erwecken solche Einschlüsse, die den von V. Schilling (24) ausführlich beschriebenen Kurloffschen Körpern des Meerschweinchenblutes verwandt zu sein scheinen. Die Versuche, festzustellen, ob es sich um echte Kurloffkörper handelt, haben zu keiner Klarheit geführt. Nach Giemsa färben sich diese Einschlüsse analog dem Kern und ähneln sehr den phagozytierten Kernresten. Bei Vitalfärbung erscheinen sie als blasige, bald homogene, bald mit bläulichrötlichen, spärlichen Granulationen ausgefüllte Vakuolen. Auf die Oxydasereaktion antworten sie negativ. Bei der Behandlung des Frosches mit Cascosan, das eine starke regenerative Verschiebung hervorruft, werden solche „Kurloffkörper" enthaltende Zellen in großer Anzahl ausgeschwemmt.

Daß das Auftreten von Phagozyten insbesondere bei Einverleibung von Bakterienkulturen zutage tritt, wird auch von Pröscher (21) erwähnt, der jedoch die damit erreichte Änderung der Blutzusammensetzung des Frosches schlechthin als „Lymphozytämie" bewertet. Er sieht also diese Zellen als Lymphozyten an, indem er schreibt: „Bei Verwendung von Bakterienkulturen entfalten die Lymphozyten eine äußerst intensive phagozytäre Tätigkeit." Den Beweis für die Auffassung Manuchins (12), daß die Leukozyten als Abwehrmittel des Organismus nur dann auftreten, wenn die Phagozyten sich als ungenügend gegen die im Blute kreisenden Erreger erwiesen haben, konnte ich beim Frosch nicht erbringen. Beim Frosch scheinen sich diese Be-

ziehungen zwischen den Phagozyten und den Leukozyten eben umgekehrt zu verhalten und zwar in dem Sinne, daß die Leukozyten, die immer zuerst in der „Kampfphase" auftreten, allmählich durch Phagozyten zum Teil verdrängt werden; eine Erscheinung, die vielmehr für ein ungenügendes Kampfvermögen der Leukozyten spricht. Das legt immerhin den Gedanken nahe, die Phagozyten des Frosches mit den menschlichen Monozyten, die im Anschluß an die Kampfphase erscheinen, zu identifizieren.

### Spindelzellen.

Es sind dies kleine, eiförmige Gebilde. Sie kommen meistens gehäuft vor. Das Plasma ist strukturlos, färbt sich nach Pappenheim schwach blau, manchmal scheint es rötlich schimmernde Nuancen zu besitzen. Der Kern füllt den ganzen Plasmaleib. Da er leicht pyknotisch wird, ist seine Struktur schwer erkennbar.

Bezüglich der ausführlicheren Literatur über diese Elemente verweise ich auf die Arbeiten von Hayem (9), Arnold (2), Dekhuyzen (4), Bizzozero (3), gordon (6), Neumann (17).

### Pigmentzellen.

Gelegentlich findet man segmentierte „neutrophile" Leukozyten ausgefüllt mit runden oder würfelförmigen Granula. Ob es sich dabei um richtiges Pigment handelt, ist fraglich, denn die Körnchen, die den eosinophilen Granula fast gleich groß sind, färben sich verschieden, bald gelb, bald rot. Zuweilen sind sie kokkenartig im Plasma zerstreut, oder besitzen die Gestalt von Stäbchen.

Manche Autoren versuchen die Granulation bzw. das Pigment der Leukozyten der Amphibien direkt vom Blutfarbstoff abzuleiten, wofür der Nachweis von Blutkörperchenresten bzw. Hämoglobin in den Pigmentzellen der Amphibien sprechen soll.

Solche Blutkörperchenreste fand ich in Pigmentzellen nicht, sondern nur in den Phagozyten.

### Die Erythrozyten.

Zur Ergänzung der Blutmorphologie des Frosches möchte ich noch die im peripheren Blute vorkommenden Elemente der erythrozytären Reihe einer oberflächlichen Beschreibung unterwerfen.

Im Blute des Frosches kreisen fast immer unreife erythrozytäre Vorstufen, ebenso wie solche, die der Leukopoese angehören, und zwar Hb-freie und Hb-haltige Erythrozyten. Ich möchte mich auf die ausführliche Beschreibung des morphologischen Habitus dieser Elemente nicht einlassen, sondern gehe nur kurz auf meine Ansicht hinsichtlich ihrer Einteilung ein.

Ich unterscheide nicht neun Stadien der Reifung, wie Freidsohn (5),

sondern vier und zwar zwei Hb-freie Vorstufen (im Knochenmark tritt noch eine hinzu) und zwei Hb-haltige Erythrozyten.

*Hb-freie Vorstufe.* Diese tritt eigentlich in zwei Modifikationen auf, die ich der Trennung wegen als Erythroblast und Hämoblast bezeichne.

*Erythroblast.*

Der Kern ist kreisrund, sehr chromatinreich, zeigt Tendenz zu radiärer fleckiger Anordnung des Chromatins; das Plasma ist schmal, schließt den Kern dicht ein und ist intensiv blau gefärbt.

*Hämoblast.* (Übergang zum Hb-haltigen Erythrozyt.) Dieser weicht insofern von dem Erythroblasten ab, als der Kern mehr radspeichenartig beschaffen ist und das Plasma neben der blauen Farbe einen grünlichen Ton erkennen läßt.

Die Hb-freien Vorstufen unterscheiden sich vom Myeloblasten dadurch, daß: a) der Kern ausgesprochen kreisrund ist, b) die Kernstruktur andere Differenzierungstendenzen aufweist, c) das Plasma homogen, glasig beschaffen erscheint und im Kern immer nur ein ziemlich großer Nukleolus erkennbar und d) die Zelle stets oxydasenegativ ist.

## Hb-haltige Erythrozyten.

*Normoblast.*

Der Kern hat eine ausgesprochene Radspeichenstruktur, ist kompakter und bedeutend kleiner, besitzt gewöhnlich eine ovale Gestalt, kann aber ebenso wie der Zelleib rund bleiben; das Plasma ist von grünlich-gelber, gelegentlich auch von gelb-bräunlicher Farbe.

*Normozyt* (*Erythrozyt*).

Der Normozyt wird charakterisiert durch seine ovale Form, einen kleinen spindeligen Kern, der meist pyknotisch aussieht, aber am Rande kompakte Chromatinklümpchen erkennen läßt und schließlich durch eine goldgelbe bis gelbe Plasmafarbe.

Zum Schluß muß noch hervorgehoben werden, daß die Erythrozyten und ihre unreifen Vorstufen sowohl in Form von Megalozyten bzw. Megaloblasten, als auch in Form von Mikrozyten bzw. Mikroblasten auftreten können. Sie pflegen besonders unter pathologischen Verhältnissen zur Beobachtung zu kommen.

Ferner können die Hämoblasten und Normoblasten sowohl mit ovalem als auch rundem Kern in die Blutbahn ausgeschwemmt werden.

Auf Grund dieser Beobachtungen scheint mir der von Freidsohn beschriebene Entwicklungsmodus der Erythrozyten, wonach ihre Vorstufen („kl. Lymphozyten") gesetzmäßig unter einem Ovalwerden des Kernes gleichzeitig größer werden, nicht ganz zutreffend zu sein.

Was die durch pathologische Reize bedingten Veränderungen des roten Blutbildes anbelangt, so werden sie im Zusammenhang mit der Kernverschiebung miterwähnt werden.

Andere Blutelemente, die als pathologische Begleiterscheinungen der Kernverschiebung aufzufassen sind.

1. Kernlose, meist in Mikroformen auftretende Erythrozyten, „neutrophile" und eosinophile Leukozyten.
2. Zellen mit Zeichen morphologischer Desorganisation, wie z. B. pyknotischen Kernen, Kernen mit Kernwandhyperchromatose und schließlich Kernen mit charakteristischen Erscheinungen des Absterbens wie Karyorhexis und Karyolysis (s. Phot. 5a, 5b).
3. Vermehrung von Kernschatten.
4. Plasmazellenähnliche Elemente.
5. Zellen mit Doppelkernen (Zwillingskerne) (s. Phot. 2a/D).
6. Zahlreiche Mitosen.

Die letztere begleiten oft eine Regeneration. Besonders beachtenswert ist, daß man die Mitosenerscheinungen nicht nur an unreifen Stammzellen, sondern auch in vorgerückten Reifungsstadien des Kernes zu sehen bekommt. Man sieht dann in der Prophase der Karyokinese einen lockeren Chromatinknäuel, in dem an sich noch nieren- oder wurstförmigen Kern.

## Epikrise.

Es ist nicht ganz ohne Interesse, in die herrschenden Verschiedenheiten der Beurteilung der qualitativen Zusammensetzung des Froschblutes etwas tiefer hineinzublicken und die morphologischen Blutbefunde der leuko-lymphatischen Reihe von Grünberg, Werzberg und Freidsohn zu vergleichen. Die Angaben von Dekhuyzen (4), Niegelewski[1]), Hirschfeld-Kassmann (11), Zieler (27) sind zu oberflächlich, um sie zu der Epikrise mit heranzuziehen.

Wenn wir die zu Anfang dieser Arbeit angegebenen Abhandlungen von Grünberg (7) und Werzberg (26), die m. E. am ehesten übereinstimmen, vergleichen, so finden wir folgende Epikrise von Werzberg:

| Grünbergsche Gruppen | | Werzbergsche Gruppen | |
|---|---|---|---|
| Gruppe I | sive | Gruppe IV | (evl. auch III) |
| „ II | „ | „ I | |
| „ III | „ | „ V | und VI |
| „ IVa | „ | „ VII | |
| „ IVb | „ | „ II | |

Inwieweit diese Epikrise richtig ist, ist sehr fraglich. M. E. sollten die gegenseitigen Beziehungen zwischen den Gruppen der beiden Autoren folgendermaßen dargestellt werden:

[1]) Zit. nach Werzberg.

| Grünberg: | | | Werzberg: |
|---|---|---|---|
| Gruppe | I | sive | Gruppe V |
| „ | II | „ | „ I |
| „ | III | „ | „ III |
| „ | IVa | „ | „ IV |
| „ | IVb | „ | „ II |
| „ | ? | „ | „ VI |
| „ | ? | „ | „ VII. |

Demnach sehen wir, daß die Werzbergschen Gruppen 6 und 7 aus der Epikrise überhaupt ausgeschlossen werden müssen, da die in ihnen beschriebenen Zellen mit keinen der Grünbergschen Gruppen identifiziert werden können. Ferner sei noch bemerkt, daß die Angaben von Werzberg selbst sehr unklar sind. So sollen z. B. bei R. temporaria die „leukozytoiden Lymphozyten" ein schwach basophiles Plasma haben, dagegen bei der R. esculenta ein ziemlich dichtes bas. Spongioplasma. Trotz dieser Verschiedenheit identifiziert er diese Zellen mit der Grünbergschen Gruppe 3 und gleichzeitig mit der eigenen Gruppe 5. Einen weiteren Fehler begeht er bei Identifizierung der Gruppe 7 mit der Grünbergschen Gruppe 4a, wo er seine Großlymphozyten (größere und kleinere), die bei der R. temporaria alle Übergänge zu polychromatischen Normoblasten aufweisen, bei der R. esculenta dagegen gelegentlich sogar als „myeloblastische" Reizungszellen erscheinen können (von Übergängen zu polychromatischen Normoblasten spricht er hier nicht), mit den Grünbergschen „großen Leukozyten" ohne Granula, deren Kerne ungleichmäßig stark gelappt erscheinen, vergleicht. Ich möchte nicht auf die Einzelheiten der Kritik seiner Epikrise eingehen, sondern will hier nur noch die Freidsohnschen Gruppen (5) heranziehen, obwohl bei allen diesen Autoren einerseits verschiedene hämatologische Auffassungen zu bestehen scheinen, andererseits ungleiche morphologische Kriteren eine dominierende Rolle spielen.

| Grünberg: | | | Werzberg: | | | Freidsohn: | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gruppe | I | sive | Gruppe | V | sive | Gruppe | I |
| „ | II | „ | „ | I | „ | „ | B |
| „ | III | „ | „ | III | „ | „ | II |
| „ | IVa | „ | „ | IV | „ | „ | III |
| „ | IVb | „ | „ | II | „ | „ | A |
| „ | ? | „ | „ | VI | „ | „ | ? |
| „ | ? | „ | „ | VII | „ | „ | ? |

Wenn ich also diese Ergebnisse auf meinen morphologischen Blutbefund des Frosches beziehe, so werde ich sie folgendermaßen identifizieren:

| Grünberg: | | | Werzberg: | | | Freidsohn: | | Meine: |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gruppe | I | sive | Gruppe | V | sive | Gruppe | I | Lymphozyten |
| „ | II | „ | „ | I | „ | „ | B | |
| „ | III | „ | „ | III | „ | „ | II | myeloisches |
| „ | IVa | „ | „ | IV | „ | „ | III | System |
| „ | IVb | „ | „ | II | „ | „ | A | |
| | | | „ | VI | meine unreifen myeloischen Zellen, die z. T. | | | |
| | | | „ | VII | der großen Generation angehören. | | | |

Da die Schilderung der Gruppen bei den Autoren nicht erschöpfend dargestellt wird, so kann ich die Möglichkeit nicht ausschließen, daß die Grünbergsche Gruppe 3 und Gruppe 3 von Werzberg, insofern sie übereinstimmen, meinen Phagozyten (von monozytoidem Typus) gleichgestellt werden müssen.

Es ist auch nicht wunder zu nehmen, daß die Angaben der Autoren so mannigfaltig sind, da die von ihnen vorgenommenen Untersuchungen wahrscheinlich in verschiedenen Jahreszeiten und an Tieren von ungleichem Alter ausgeführt worden sind. Die Werzberschen Angaben rühren z. T. sogar von kranken (amputierten) Fröschen her. M. E. kann aber nur die regelmäßige unter gleichen Bedingungen angestellte Beobachtung einer künstlich erzeugten Kernverschiebung Orientierung nach Zugehörigkeit und Alter der Zelle geben.

## Die Kernverschiebung.

Wie aus meinen Versuchen mit Klarheit hervorgeht, kann die Kernverschiebung beim Frosch ebensogut wie beim Menschen an den Veränderungen in der „neutrophilen" Gruppe verfolgt werden.

Der Einzige, bei dem man eine Andeutung auf Kernverschiebung bei Amphibien findet, ist Pentimalli (20), der jedoch eine ausschließliche Verwertung der Veränderungen in der neutrophilen Gruppe (hämato-neutrophiler Index) für unzulässig hält. Für die Einteilung der weißen Blutkörperchen schließt er sich nicht der damals von Arneth vorgeschlagenen und ihm als etwas „gekünstelt" erscheinenden Klassifizierung an, sondern folgt der Ehrlichschen Einteilung, jedoch mit der Modifikation, daß er die Ehrlichschen „großen Lymphozyten" im Einvernehmen mit Grawitz als mononukleäre Leukozyten bezeichnet. Zur Färbung benutzte er die Giemsasche Methode (Azur 2, dann Ehrlichs Triazidlösung).

Pentimalli behandelte die Frösche mit Pepton, Pilokarpin, Trementin und destilliertem Wasser. Damit erzeugte er eine Leukozytose, die hauptsächlich aus mononukleären Leukozyten bestand. Das Blut wurde aus dem Herzen entnommen. In seiner Schlußfolgerung schreibt er: „Es ist anzunehmen, daß bei den Amphibien die lymph- und blutbereitenden Gewebe auf einen Reiz mit der Erzeugung von Mononukleären reagieren, während die Hyperproduktion von Polynukleären geringer ist. „Aus der mit destilliertem Wasser erzeugten „Mononukleose" zieht er den Schluß, daß die mononukleären Leukozyten der verminderten Konzentration des Plasmas gut Widerstand leisten, während die polynukleären Leukozyten infolge der Hypotonie der Umgebung einer Zytolyse anheimfallen. Ferner bezeichnet er die „Mononukleose" der Amphibien als einen Vorgang, der der „Polynukleose" der höheren Tiere gleichwertig ist. Darüber äußert er sich folgendermaßen: „Da nun sowohl bei dieser von mir

beobachteten „Mononukleose" der Amphibien, wie bei der „Polynukleose" der höheren Tiere das gleiche genetische Moment, die gleiche Produktionsweise und wahrscheinlich der gleiche Verteidigungszweck für den Organismus vorliegen, so glaube ich füglich schließen zu können, daß die mononukleären und die polynukleären Leukozyten die gleiche biologische Bedeutung haben". „Gewöhnlich", fügt er weiter hinzu, „tritt bei den höheren Tieren die Polynukleose, bei den Amphibien aber die Mononukleose auf".

Ich möchte auf drei wesentliche Punkte in der Pentimallischen Arbeit hinweisen, die m. E. nicht unwidersprochen bleiben dürfen, und zwar auf das Einteilungsprinzip der weißen Blutkörperchen, auf die Auffassung der „Mononukleose" und auf die biologischen Schlußfolgerungen. Das Einteilungsprinzip von Pentimalli ist für eine exakte Beurteilung des Ablaufes der Leukozytose zweifellos allzu schematisch. Seine Auffassung vom Auftreten der „Mononukleose" scheint mir irrtümlich zu sein, da er sich damit der Arnethschen Versuchstheorie anschließt, während seine „Mononukleose" im peripheren Blute der meiner weiter unten zu besprechenden regenerativen und hyperregenerativen Verschiebung gleichwertig ist. Dies ist dagegen, wie ich es noch später zu begründen haben werde, nur als Ausdruck eines reaktiven Zustandes des hämatopoetischen Apparates aufzufassen. Was seine biologische Schlußfolgerung über die gleiche Bedeutung der „Mononukleose" der Amphibien und der „Polynukleose" der höheren Tiere anbelangt, so möchte ich dem schärfstens widersprechen, da ich mit Sicherheit beobachtet habe, daß so gut wie immer (abhängig vom histologischen Zustand des Knochenmarkes!) einer solchen „Mononukleose" eine „polynukleäre Neutrophilie" (einfache oder hyporegenerative Verschiebung), „die Kampfphase", vorausgeht, die dann allmählich erst in eine typische regenerative Phase, in die „Mononukleose" von Pentimalli übergeht. Wir müssen also den Schluß ziehen, daß die Mononukleose der Amphibien und der höheren Tiere als ein Vorgang von durchaus gleicher biologischer Bedeutung zu werten ist.

Was die einzelnen Formen der Kernverschiebung anbetrifft, so lassen sie sich in gewissen Beziehungen mit denen beim Menschen identifizieren. Die durch einen Reiz bedingte Reaktion des hämatopoetischen Apparates beim Frosch macht sich in einer Regeneration des peripheren Blutes bemerkbar, die, wie wir noch später sehen werden, durchaus nicht auf einem Verbrauch von myeloischen Zellen beruht, sondern auf eine histologische Umwandlung des Knochenmarkes zurückzuführen ist. Dabei beobachtet man, daß nicht immer eine Verschiebung der Neutrophilen mit einer gesamten Hyperproduktion von Leukozyten, wie es meist bei der regenerativen Verschiebung beim Menschen der Fall ist, einhergeht, sondern es bestehen Verschiebungen, bei denen keine

Leukozytosen nachweisbar sind. Ebenso ist auch der Ablauf der Verschiebung vielfach verschieden.

Wenn man meine Versuchsprotokolle überblickt, so sieht man, daß gewöhnlich dem Reiz zunächst eine Ausschwemmung von Vorsegmentierten und Segmentierten folgt, mit der manchmal jedoch Myelozyten und sogar vereinzelte Myeloblasten mitgerissen werden können. Nach der Ausschwemmung von Vorsegmentierten und Segmentierten folgt ein Stadium, in dem die Linksverschiebung manifester zum Ausdruck kommt, d. h. die Jugendlichen und Myelozyten nehmen beträchtlich zu; schließlich treten zu diesen Promyelozyten und Myeloblasten hinzu. In diesem Augenblick erreicht die Kernverschiebung ihren Gipfelpunkt; die Zahl der Promyelozyten und Myeloblasten beherrscht zum Schluß das gesamte Bild.

Dieses letzte Stadium der regenerativen Verschiebung stellt sich nicht immer als ein agonales Symptom dar. In der Mehrzahl der von mir beobachteten Fälle erwies sich als Vorbote des Exitus des Tieres eine von einer starken Anämie begleitete Leukozytose, bei der die Myelozyten und Jugendlichen die dominierenden Zeichen der Regeneration waren (s. Blutbild vor dem Exitus; Protokoll Nr. 4, 5, 6, 8, 10).

Gelegentlich verläuft die Kernverschiebung beim Frosch nach einem gänzlich anderen Typ. Ich habe in solchen Fällen den Eindruck gewonnen, daß die Kernverschiebung beim Frosch nicht so sehr von dem sie auslösenden Mittel und seinem Wirkungsgrad, sondern im wesentlichen vom morphologischen Zustande des Knochenmarkes abhängt. Das Knochenmark scheint dabei in erster Reihe mit einer Ausschwemmung derjenigen Zellen zu reagieren, die seiner momentanen Beschaffenheit entspricht. Wenn man z. B. vor der Behandlung im peripheren Blute ein auffallendes Vorherrschen irgendwelcher Art von myeloischen Zellen findet, so werden sofort nach Einsetzen des Reizes gerade diese Zellen ausgeschwemmt, ohne daß die Kernverschiebung, wie es eigentlich der Fall sein müßte, die einzelnen Stadien der Zellregeneration durchläuft. Nach diesem abnormen Einsetzen kann die Kernverschiebung entweder weiter nach dem oben beschriebenen Typ verlaufen und mit einem myeloblastischen Blutbild enden oder aber das Tier geht auf der Höhe der initialen Ausschwemmung ein.

Eine interessante Beobachtung habe ich bei einigen abnormen Kernverschiebungen gemacht, bei welchen eine akute Ausschwemmung von nur großzelligen myeloischen Elementen stattfand. Ich habe schon weiter oben erwähnt, daß man unter fast allen Blutelementen des Frosches verschiedene Generationsgrößen der Zellen unterscheiden kann. Die Ausschwemmung von großen Zellen deutete immer auf ein Versagen der Leistungsfähigkeit des Knochenmarkes. Auffallend war dabei, daß diese großen myeloischen Zellen den Monozyten glichen. Daß sie aber doch nicht als Monozyten betrachtet werden dürfen,

dafür spricht m. E. der Umstand, daß dabei sämtliche Blutelemente entsprechend an Größe zunahmen. Ferner spricht dagegen der Knochenmarkbefund, wo in solchen Fällen enorm große hypertrophische Zellen gefunden werden (s. Phot. Nr. 1a, 1b, 2b und vergleiche das Knochenmark Nr. 8a und b mit Nr. 10; gleiche Vergrößerung!).

Als eine andere Abweichung der Regeneration wäre die anzuführen, wo auffallend kleine Zellen im Vordergrund stehen. Diese Regenerationsform deutet gleichfalls auf eine Herabsetzung der Leistungsfähigkeit des Knochenmarkes, was deutlicher in den Fällen ist, in denen sich an den Zellen degenerative Störungen zeigen, wie Zerfließlichkeit und Quellbarkeit des Kernes und Protoplasmas, schlechte Färbbarkeit des Kernes usw. Aus diesem kurzen Überblick über den Ablauf der Kernverschiebung glaube ich folgern zu können, daß man beim Frosch ebenso wie beim Menschen verschiedene Kernverschiebungstypen unterscheiden kann.

Da aber schon die normale Zusammensetzung des Froschblutes von der des Menschen grundverschieden ist, so möchte ich die einzelnen Phasen der Verschiebung anders bewerten. Demnach teile ich die Kernverschiebung beim Frosch ein in:

I. einfache oder hyporegenerative
II. regenerative
} Verschiebung mit ohne Leukozytose.

II. hyperregenerative
IV. degenerative
V. makrozytäre
VI. mikrozytäre
} Verschiebung { mit und ohne Leukozytose

*Einfache oder hyporegenerative Verschiebung.*

Diese tritt fast immer gleich mit dem Beginn des angewandten Reizes auf und wird vorwiegend durch Segmentierte und Vorsegmentierte repräsentiert. Gelegentlich treten auch vereinzelte Jugendliche auf (s. Protokoll Nr. 2, 3, 6, 9).

*Regenerative Verschiebung.*

Sie findet ihren Ausdruck in einer Ausschwemmung von Jugendlichen und Myelozyten. Oft findet man dabei Mitosen in den myeloischen Zellen (s. Protokoll Nr. 4, 5, 6, 8, 10; Phot. Nr. 3b, 3c, 3d; bei 3c nimmt die Verschiebung mehr degenerativen Charakter an).

*Hyperregenerative Verschiebung.*

Bei dieser erreicht die Verschiebung ihren höchsten Grad und dokumentiert sich durch eine enorme Anzahl Promyelozyten und Myeloblasten (s. Protokoll Nr. 1, 3, 6, 7, Phot. Nr. 4b).

*Degenerative Verschiebung.*

Ausschwemmung von Degenerationszeichen aufweisenden Zellelementen. Fast immer gesellt sich dabei eine mikrozytäre Verschiebung hinzu.

*Makrozytäre Verschiebung.*

Hier sind die Zellen auffallend groß und meist unreif.

*Mikrozytäre Verschiebung.*

Sie wird nicht nur durch mikrozytäre Elemente, sondern auch durch eine einsetzende Anämie und Degeneration charakterisiert.

Beim Auftreten einer der drei letzten Verschiebungsarten geht das Tier mit Sicherheit dem Exitus entgegen.

Nachdem ich auf die einzelnen Arten der Kernverschiebung eingegangen bin, sehe ich mich genötigt, nochmals auf die „Inkongruenzzellen", die bei der Wertung der Kernverschiebung nicht unberücksichtigt blieben, zurückzukommen. Wie erinnerlich, wollte ich der Einfachheit wegen bei der Wertung der Blutbilder nur drei Typen von Inkongruenzzellen unterscheiden, und zwar je eine in jeder der drei Gruppen.

Wie wir gleich sehen werden, haben die Inkongruenzzellen als Ausdruck der Reizstärke bzw. der erhöhten Tätigkeit des Knochenmarkes zu gelten.

Im normalen Froschblute werden sie fast immer vermißt. Allerdings fand ich manchmal Inkongruenzzellen der plasmatisierten Gruppe, deren Zahl aber höchstens 1—2% betrug. Sobald jedoch eine pathologische Blutzusammensetzung vorlag, pflegte auch ihre Zahl anzusteigen oder es traten sogar die I.-Z.[1]) der zweiten und seltener die der ersten Gruppe auf (s. die Versuchsprotokolle vor der Behandlung Nr. 5, 6, 7).

Überblickt man in meinen Versuchsprotokollen den Verlauf der Kernverschiebung, so findet man, daß die Inkongruenzzellen gewöhnlich in denjenigen Gruppen auftreten, in denen die Verschiebung sich zuerst bemerkbar macht. (S. Versuchsprotokolle.)

Liegt z. B. eine hyporegenerative Verschiebung vor, so finden wir vorwiegend oder ausschließlich die I.-Z. III, nimmt die Verschiebung einen regenerativen Charakter an, so finden wir die I.-Z. II usw.

Bleibt nun die Verschiebung bei Wiederholung der Untersuchung qualitativ die gleiche, steigt jedoch die Zahl der hierzugehörigen Inkonkruenzzellen an oder zeigt sie die Tendenz anzusteigen, so können wir mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit damit rechnen, daß die Reizung des Knochenmarkes so stark ist, daß seine Regeneration bzw. die Kernverschiebung weiter zunehmen wird (s. Protokoll Nr. 5 und 10). Das Auftreten der Inkongruenzzellen der

[1]) Inkongruenzzellen

plasmatisierten Gruppe war nur dann mit Sicherheit als pathologisch zu werten, wenn sie mehr als 4% betrugen. Dagegen deutet das Vorhandensein der Inkongruenzzellen der schwach basischen Gruppe schon allein auf einen abnormen Ablauf des Regenerationsvorganges. Das Knochenmark erweist sich außerstande den ausgeübten Reiz in normaler Weise abzulenken. Es reagiert vielmehr auf diesen mit beschleunigter Ausschwemmung von noch nicht ganz ausgereiften Zellen. Treten nun schließlich noch die Inkongruenzzellen der stark basischen Gruppe, also noch unreiferen Formen hinzu, so müssen wir dies als schwersten Grad der Knochenmarkschädigung ansehen. Diese letzteren atypischen Zellen pflegen in weit geringerer Anzahl aufzutreten wie die schwach basophilen (s. Versuchsprotokoll Nr. 3, 4, 6).

Auf Grund dieser Beobachtungen bin ich geneigt, Blutbilder wie die der Versuchsprotokolle Nr. 5 am 1. 11., Nr. 6 am 17. 12. und sogar Nr. 7 am 7. 6., die vor der Behandlung des Tieres angefertigt wurden, auf einen pathologischen Vorgang im Tier zurückzuführen. In der Tat konnten Trypanosomen oder irgendwelche andere Parasiten nachgewiesen und als Ursache der atypischen Regeneration angesprochen werden.

Was die Beziehungen der einzelnen Zellklassen des Froschblutes zueinander während einer regenerativen Kernverschiebung anbelangt, so möchte ich nur erwähnen, daß manchmal eine Kernverschiebung innerhalb der „Neutrophilen" bzw. Eosinophilen gleichzeitig mit einer Regeneration des roten Blutbildes einherging. Beachtenswert ist aber dabei, daß eine ausgesprochene Eosinophilie fast immer von einer auffallenden Ausschwemmung von Erythroblasten, Hämoblasten und Normoblasten begleitet war.

Nicht weniger interessante Ergebnisse, die ich hinsichtlich der Artspezifität der Zellen als entscheidend bezeichnen möchte, scheinen mir durch die Splenektomieversuche erzielt worden zu sein.

Ich habe im ganzen 10 Splenektomien ausgeführt. Einige wurden bei Fröschen, bei denen noch keine oder nur eine geringfügige physiologische Regeneration des Knochenmarkes eingetreten war (s. Versuchsprotokoll Nr. 8 und 9) und einige auf der Höhe der Regenerationsperiode ausgeführt (s. Versuchsprotokoll Nr. 10). Einige Frösche wurden vor der Splenektomie mit Thyreolutal + Terpentinöl vorbehandelt.

Aus den Versuchsprotokollen geht hervor, daß die Splenektomie immer zu einer Kernverschiebung Anlaß gab. Im Ablauf derselben finden wir z. B. in dem Versuchsprotokoll Nr. 9 zunächst eine „einfache Verschiebung", die, wie aus Parallelversuchen hervorgeht, zweifellos einen mehr regenerativen Charakter annehmen würde, wenn das Tier am Leben geblieben wäre. Dagegen veranschaulicht das Versuchs-

protokoll Nr. 8 die nächste Etappe der Regeneration; dasselbe ist auch von dem Versuchsprotokoll Nr. 10 zu sagen, in dem wir eine recht starke regenerative Kernverschiebung vor uns haben (s. Phot. Nr. 4a und 4b). Das Tier wurde zum Zwecke der Fixierung des Knochenmarkzustandes in diesem Stadium getötet. Es muß hinzugefügt werden, daß alle meine Splenektomieversuche zu gleichen Endergebnissen geführt haben und zwar zu einer starken regenerativen Verschiebung.

Da die Schlüsse, die aus meinen Splenektomieversuchen hervorzugehen scheinen, auch eng mit den Knochenmarkbefunden verknüpft sind, so halte ich es für zweckmäßig, sie im letzten, allerdings kurz zusammengefaßten Kapitel meiner Arbeit über „die blutbildenden Organe des Frosches und ihre Beziehungen zu dem peripheren Blute" zu erörtern.

Was den Unterschied im Ablauf der Kernverschiebung bei Winter- bzw. Sommerfröschen anbetrifft, so nahm sie meistens bei den ersten einen akuten Charakter an, während sie bei Sommerfröschen mehr schleichend verlief. Dieser Unterschied im Ablauf der Kernverschiebung ist m. E. auf einen ungleichen funktionellen Zustand des Knochenmarks zurückzuführen. Interessant ist auch, daß der Winterfrosch im Anschluß an eine rapide Kernverschiebung schnell, vorwiegend an einer sich sekundär entwickelnden Anämie, zugrunde ging, während der Sommerfrosch auf den angewandten Reiz nicht so prompt reagierte, dafür aber auch meist am Leben blieb.

Zum Schluß möchte ich noch einige nicht uninteressante Wirkungen der von mir benutzten Mittel erläutern.

Speziell neutrotaktisch wirkten: Terpentinöl, Thyreolutal und besonders Caseosan. Kolibazillen riefen zunächst eine geringfügige Neutrophilie hervor, übten aber einen schweren Reiz aus, der eine hyperregenerative Verschiebung mit einer daran anschließenden degenerativen Verschiebung zur Folge hatte.

Der kurz vor dem Exitus angefertigte Blutausstrich und die Tupfpräparate der Organe post mortem waren vollkommen mit Kolibazillen übersät (s. Phot. Nr. 5a und 5b).

Kombination von Thyreolutal und Terpentinöl rief akute Eosinophilie hervor, die unmittelbar nach Verabreichung dieser Mittel auftrat (s. Versuchsprotokoll Nr. 8 und 9).

Behandlung mit Thyreolutal und anschließender Koliinfektion erzeugte allmählich eine solche „Hyperleukozytose", daß eine exakte Feststellung der quantitativen und qualitativen Verhältnisse absolut unmöglich war. Der Zustand wäre mit einem leukämischen Blutbild des Menschen vergleichbar (s. Versuchsprotokoll Nr. 5).

## Die blutbildenden Organe des Frosches und ihre Beziehung zu dem peripheren Blut.

Die von mir ausgeführten Studien an Tupf- und zum Teil auch Schnittpräparaten des Knochenmarkes und der Milz ließen mich zu dem Schluß kommen, daß die Blutbildung bei dem Frosch vorwiegend in diesen Organen erfolgt. Die Befunde an Leberpräparaten, in denen man zwischen den Leberzellbalken außer einer geringen Anzahl von reifen Blutelementen auch vereinzelte jüngere Elemente zu sehen bekommt, waren nicht genügend überzeugend, um diesem Organ eine wesentliche hämatopoetische Bedeutung zuzuschreiben. Ich werde aus diesem Grunde in meiner Arbeit auf die Bedeutung der Leber nicht weiter eingehen. Die Lösung der uns hier interessierenden Fragen bildet insofern einige Schwierigkeiten, als wir es mit einem poikilothermen Tier zu tun haben.

Ich habe schon im Vorwort die Meinung von Neumann (16) erwähnt, in der er eine strikte Lokalisation des ganzen Blutbildungsprozesses im Knochenmark der Amphibien bestreitet. C. Marquis aber spricht in seiner Dissertation (zit. nach Neumann) bald von einem „Fettmark", bald von einem „lymphoiden" Mark und will das erste in der Zeit der Regenerationspause (von Anfang August bis Mai) und das zweite in der Periode der Regeneration (von Mai bis Ende August) gesehen haben. Da er aber zum Studium des Knochenmarks die Schnittmethode, die für eine Differenzierung der Blutelemente ungeeignet ist, gebraucht hat, so scheint mir seine Bezeichnung des Knochenmarks nicht ganz zutreffend zu sein. Ich komme darauf noch zurück, will jetzt aber hervorheben, daß wir dieses Organ in verschiedenen Jahreszeiten zu betrachten haben: im Winter und im Sommer.

Bevor ich auf die eigentlichen morphologischen Befunde eingehe, möchte ich mit einigen Worten den makroskopischen Bau dieses Organes erwähnen. Das Knochenmark bietet, wie bereits von C. Marquis beschrieben, einen unbeständigen Befund dar, da es je nach seinem funktionellen Zustande eine bald gelblich-milchige, bald graue, bis grauschwarze Farbe annimmt. Meine Beobachtungen weichen insofern von denjenigen C. Marquis ab, als meine mikroskopischen Befunde am Tupf- und Schnittpräparaten dem durch die Funktion bzw. Funktionslosigkeit bedingten makroskopischen Aussehen nicht entsprachen.

Nach den Angaben von C. Marquis soll ein „Fettmark", das wir an seiner gelblichen Farbe erkennen, keine Blutelemente enthalten. Ich fand aber in den meisten Epiphysen der langen Röhrenknochen, wo man nach C. Marquis Fettmark finden müßte, fast immer dunkelrote Inseln, die durch den Knochen hindurchschimmerten. In den aus diesen Inseln angefertigten Tupfpräparaten konnte ich immer Blut-

elemente nachweisen. Daß diese durchaus vom Knochenmark herstammen, scheint mir daraus hervorzugehen, daß sie durch solche Zellen repräsentiert werden, die man auch in Tupfpräparaten des Knochenmarks während seiner Regenerationszeit antrifft und daß sie auch nach einer Splenektomie die gleichen bleiben.

Das Aussehen des Knochenmarkes während der Regeneration entspricht der Beschreibung von C. Marquis: man findet schon im Schnittpräparat einen aus dicht zusammengedrängten Zellen bestehenden, sich zunächst um die Peripherie herum bildenden Mantel von Blutelementen.

Was die morphologische Bewertung des Knochenmarkbefundes anbelangt, so kann ich mich mit C. Marquis nicht solidarisch erklären, da er seine Beobachtungen an den Schnittpräparaten, in denen man die Zellen kaum richtig differenzieren kann, anstellte. Das Knochenmark des Frosches ergab trotz seiner funktionellen Besonderheiten in bezug auf seine morphologische Zusammensetzung in verschiedenen Regenerationsperioden immer einen und denselben Befund, der meines Erachtens als spezifisch zu bewerten ist. Damit will ich ausdrücklich darauf hinweisen, daß die Leukopoese und Erythropoese nur im Knochenmark zu suchen ist, was noch deutlicher zum Ausdruck kommen wird, wenn ich auf die Beziehungen der Blutbildungsstätte zu dem peripheren Blut eingehen werde. Dieses Ergebnis meiner Untersuchung kann mit der Neumannschen (16) Schlußfolgerung in Einklang gebracht werden. — Er untersuchte das venöse Markblut des Frosches (unter Freilegung der größeren venösen Stämme) und folgert, daß „das Markblut sich stets durch einen außerordentlichen Reichtum an farblosen Elementen auszeichnet, gewissermaßen leukämisch ist . . .". „Da nun ferner diese farblosen Elemente in ihrer Majorität jedenfalls die bekannten Leukozyten in ihren verschiedenen Formen sind, so habe ich mich für berechtigt gehalten, das Knochenmark für ein Organ, in welchem eine Einwanderung von Leukozyten in die Blutbahn stattfindet, zu erklären . . ., da Lymphdrüsen dem Frosch fehlen und die Milz relativ klein ist".

Natürlich dürfen wir uns nicht wundern, wenn wir im Knochenmark vereinzelte Lymphozyten finden, denn das Knochenmark der höheren Wirbeltiere besitzt gleichfalls diese Besonderheit. So äußert sich in dieser Beziehung Schilling (23) folgendermaßen: „daß das Knochenmark Lymphozyten liefert, ist in bescheidenem Maße denkbar, da, individuell verschieden, echte lymphatische Follikel spärlich auffindbar sind, aber diese Lymphozytenherde erscheinen wie Enklaven im fremden Gewebe". Diese Lymphozyten, die ich im Knochenmark des Frosches immer beobachtete, müssen morphologisch von solchen der Milz gesondert betrachtet werden, da es sich um die von mir bereits be-

schriebenen „Zwergformen", die nach Dujardin (zit. nach Gordon) mit seinen „Excroissances sarcodiques" versehen sind, handelt.

Echte typische Milzlymphozyten konnte ich niemals im Knochenmark auffinden.

Hinsichtlich der Bezeichnung des Knochenmarkes in bezug auf den morphologischen Befund, möchte ich die Einteilung, die C. Marquis vorgeschlagen hat, als nicht recht zutreffend betrachten, da einerseits das makroskopische Aussehen des Markes nicht dem Befund im Tupfpräparat entspricht und andererseits die Bezeichnung „lymphoides Mark" zytodiagnostisch unkorrekt genannt werden muß.

Das Knochenmark des Frosches möchte ich schlechthin einteilen in: a) zellarmes und b) zellreiches. Das erste kommt beim Winterfrosch, das zweite beim Frühjhars- bzw. beim Sommerfrosch vor. Da aber das Knochenmarkbild besonders unter pathologischen Verhältnissen in verschiedenen Jahreszeiten verschiedene morphologische Zustände aufweist, müssen wir es etwas genauer analysieren und zwar können wir es folgendermaßen einteilen:

$$\text{Winterfrosch} \left\{ \begin{matrix} \text{hyporegeneratives (normal)} \\ \text{regeneratives (patholog.)} \end{matrix} \right\} \text{Knochenmark.}$$

$$\text{Sommerfrosch} \left\{ \begin{matrix} \text{regeneratives (normal)} \\ \text{hyperregeneratives (pathol.)} \end{matrix} \right\} \text{Knochenmark.}$$

Die Hyporegeneration des Knochenmarks (die eigentliche Zellarmut) bekundet sich darin, daß es einen unbestimmten morphologischen Charakter trägt. Man findet dabei keine auffallende Übergangskette zwischen den einzelnen Zellen; dieser Zustand wird vorwiegend von hypertrophischen, entdifferenzierten Stammzellen, vereinzelten Vorsegmentierten und „Segmentierten" repräsentiert, die alle disseminiert, ordnungslos in Schnitt- und Tupfpräparat verteilt liegen. Überall dazwischen liegen reife Erythrozyten (s. Phot. Nr. 10).

Im regenerativen Stadium dagegen tritt eine erhebliche Änderung auf, die aber im Winter nur in quantitativer, im Sommer dagegen, sowohl in quantitativer als auch qualitativer Hinsicht zum Ausdruck kommt. Es finden sich dabei schon richtige Bildungsherde, man kann eine ununterbrochene Übergangskette zwischen den einzelnen Formen verfolgen, das Mark nimmt ein bestimmtes Aussehen an, so daß man von einem „neutrophilen", einem „eosinophilen" oder einem „gemischten" Knochenmark reden kann (s. Phot. Nr. 7, 8a und 8b).

Gewöhnlich ließ sich beim Winterfrosch die hyporegenerative, beim Frühjahrsfrosch die regenerative Form nachweisen, bei der viele Myelozyten, Promyelozyten und eine nicht geringe Anzahl von Myeloblasten zu sehen waren. Viele interessante Befunde im Knochenmark habe ich in den Fällen gemacht, in denen sich das Tier dauernd unter irgendwelchem Reiz befand. Es trat dabei eine vollkommene Umwandlung des histologisch-morphologischen Bildes des Knochenmarkes auf.

So war z. B. das Wintermark imstande auf den Reiz mit einer Regeneration zu antworten. Das aber schon in Regeneration begriffene Knochenmark pflegte bei künstlichen Reizen entweder einen mehr manifesten regenerativen oder ungewöhnlich hyperregenerativen Charakter anzunehmen. Die hyperregenerative Form konnte man daran erkennen, daß das Knochenmark neben den Myeloblasten von hauptsächlich großen unreifsten Vorstufen vollkommen übersät erschien, die allem Anschein nach als Erythrogonien und Myelogonien zu betrachten sind. Es sind dies große und mittelgroße runde oder ovale Zellen, deren Kern außerordentlich groß ist und einen besonderen Reichtum an Chromatin aufweist. Das Protoplasma erscheint auffallend stark basophil und bildet um den Kern einen nur schmalen Saum (s. Phot. Nr. 12a, 12b). Eine Unterscheidung zwischen Erythrogonien und Myelogonien ist fast unmöglich. Die Oxydasereaktion versagt dabei absolut. Einige Anhaltspunkte für eine Differenzierung dieser Zellen liefert uns die Tatsache, daß die Erythrogonien in etwas reiferem Stadium Tendenz zu radiärer Anordnung des Chromatins entfalten, wobei der Kern im Gegensatz zu den Myelogonien niemals an den Plasmarand heranrückt und daß das Plasma oft einzelne kreisrunde Löcher besitzt. Einzelne solcher Zellen lassen schon in diesem Stadium im Plasma kleine, gelbliche oder grünlich-gelbliche Granula erkennen (s. Phot. Nr. 12 a). Es handelt sich dabei m. E. wahrscheinlich um die primitivsten eosinophilen Granula, die aber hier unter irgendeiner Reizeinwirkung ein Aussehen bekommen, wie z. B. nach einer Splenektomie.

Viel häufiger zeigte sich ein Knochenmark, das fast ausschließlich aus unreifen Eosinophilen bestand, die teilweise mit kleinen Granula ausgefüllt waren. Es fanden sich dabei auch viele eosinophile, promyelozytäre und deren nachfolgende Stadien. Dieser Knochenmarksbefund war dabei immer ein Spiegel des peripheren Blutbildes.

Bevor ich auf die gegenseitige Beziehung der blutbereitenden Stätten zu dem peripheren Blut eingehe, möchte ich noch mit einigen Worten die Milz als ein der Hämatopoese angehörendes Organ kurz streifen.

Die Milz des Frosches, deren Funktion im Gegensatz zu der des Knochenmarkes unabhängig von der Jahreszeit ist, stellt ein Organ dar, das einerseits ausschließlich Lymphozyten (außer den Zwergformen) liefert und andererseits vor allem „entmischend" zu wirken scheint, wie Pappenheim (18) mit Recht hervorhebt. Maximow (13) spricht der embryonalen Milz der Amphibien keine eigentliche Funktion zu: „sie besteht aus dichtem mesenchymatischem Retikulum mit relativ spärlichen Lymphozyten . . . Die vorhandenen Erythrozyten scheinen eher zu degenerieren und zu zerfallen als sich zu vermehren".

Nach meiner Beobachtung ist die Milz beim erwachsenen Frosch stets strotzend mit Lymphozyten gefüllt (s. Phot. Nr. 3).

Außer den Lymphozyten findet man im Gewebe auch vereinzelte Leukozyten. Beide Zellarten stammen zweifellos vom peripheren Blut her. Als dritten morphologischen Bestandteil der Milz, der jedoch zum Gerüst gehört und auch im Knochenmark nicht fehlt, müssen wir die retikulo-endothelialen Zellen nennen, auf deren Bedeutung beim Frosch ich in meiner Arbeit nicht näher eingehen kann.

Es bleibt mir noch übrig, einiges über die Beziehung dieser beiden Organe zu dem peripheren Blute hinzuzufügen. Schon bei Untersuchung des peripheren Blutes läßt sich die Beobachtung machen, daß das hämatopoetische System physiologischerweise zu verschiedenen Jahreszeiten ungleichmäßig arbeitet. So prävalieren im peripheren Blute des Winterfrosches so gut wie immer die Lymphozyten. In den Fällen jedoch, in denen sich eine qualitative Abweichung im peripheren Blute beobachten ließ, die z. B. in einer einfachen Kernverschiebung bestand, erwies sich auch das Knochenmark reicher an Blutelementen, deren Herde dann denen des regenerativen Knochenmarkes entsprachen. Beim Sommerfrosch trat dieser Zusammenhang zwischen dem peripheren Blut und dem Knochenmark an einem ganz bestimmtem Symptom noch deutlicher hervor. Dieses Symptom zeichnete sich in einer Ausschwemmung vorwiegend unreifer erythrozytärer Vorstufen aus. Die Ausschwemmung von myeloischen Zellen war bemerkbar, aber so gering, daß man die kreisenden unreifen Elemente der myeloischen Reihe unberücksichtigt lassen konnte. Die Beziehung zwischen der Blutzusammensetzung und dem regenerierenden Knochenmark ist in der Arbeit von C. Marquis beschrieben. Neumann zitiert ihn folgendermaßen: „Die Frage, welchen Einfluß die im Frühjahr eintretende lymphoide Umwandlung des Markes auf die morphologische Konstitution des Blutes und die Regeneration desselben hat, beantwortet Marquis dahin, daß es sich dabei lediglich um Produktion roter Blutzellen im Knochenmark handelt, wobei er die Beteiligung dieses Organes an der Leukozytenbildung in Abrede stellt, denn „die Zahl der weißen Blutkörperchen nahm bereits zu einer Zeit (Mai) zu, wo das Knochenmark noch lange nicht den ausgesprochenen lymphoiden Charakter trug“ (zit. nach Neumann „Blut und Pigmente“, Hämatologische Studien 1, Seite 212).

Eine Beziehung zwischen der Regeneration des Knochenmarkes und dem peripheren Blute, insofern als man hier eine richtige Kernverschiebung hätte beobachten können, ließ sich nicht feststellen. Nur bei der durch künstliche Reize bedingten Knochenmarkwucherung trat erst die eigentliche Kernverschiebung auf.

Auf Grund dieser Beobachtung möchte ich die physiologische und die pathologische (oder künstlich hervorgerufene) Regeneration des Blutes streng unterscheiden. Die erste macht sich vorwiegend unter den

erythrozytären Elementen ohne eigentliche Kernverschiebung bemerkbar, die letzte geht dagegen mit einer manifesten Kernverschiebung einher. Infolge einer solchen Verschiedenheit beider Regenerationstypen, glaube ich eine enorme Zunahme von Segmentierten und Vorsegmentierten oder eine leichte regenerative Verschiebung im peripheren Blute nicht als eine schlechthin ontogenetische, sondern als eine allgemein für jedes Knochenmark gültige durch einen Reizungszustand desselben bedingte Erscheinung auffassen zu müssen. Zugunsten dieser meiner Ansicht möchte ich folgende Beobachtung anführen:

Ich fand oft vor der Behandlung des Tieres Blutbilder mit Verschiebungserscheinungen (s. Versuchsprotokolle), wobei stets entweder im Blute oder in den Exkrementen des Versuchstieres irgendwelche Parasiten nachgewiesen waren. Es waren dies Froschtrypanosomen oder Würmer einer mir unbekannten Art; sie wurden immer nach der Caseosanbehandlung ausgeschieden; gelegentlich sah ich auch die oben bereits erwähnten Phagozyten mit Kurloffähnlichen Einschlüssen.

Daß das Knochenmark auch im Winter Blutelemente und zwar myeloische Zellen besitzt, scheint mir aus meinen Splenektomieversuchen hervorzugehen. Ich habe hiernach keine anderen hämatopoetischen Stellen gefunden.

Nach der Entfernung der Milz konnte ich im Blute schon nach 24 Stunden zunächst eine einfache Verschiebung feststellen. Um noch sicherer zu sein, daß die Leukozyten nicht von der Milz herstammen, habe ich die Splenektomie zur Zeit einer Kernverschiebung ausgeführt, indem ich das Tier mit irgendeinem Reizstoff vorbehandelte. Bei diesen Versuchen machte ich die Erfahrung, daß die Lymphozyten allmählich verschwanden (selten blieben nur „Zwergformen", die manchmal eine Steigerungstendenz zeigten), das Leukozytenbild blieb dagegen entweder unverändert oder es wies eine Verschiebungstendenz auf (s. Versuchsprotokolle Nr. 8, 9 und 10). Es scheint mir demnach denkbar, daß die winterliche Funktionsuntüchtigkeit des Knochenmarkes entweder durch fehlende Reize (nervöse, chemotaktische) oder, was sich nach diesen Versuchen viel wahrscheinlicher macht, durch einen hemmenden Einfluß der Milz auf das Knochenmark bedingt wird.

Was den Knochenmarksbefund anbelangt, so hängt er von der Zeitspanne, die nach der Splenektomie verstrichen ist, ab. Ging das Tier in 4—6 Tagen, innerhalb deren sich eine regenerative Verschiebung einstellte, zugrunde, so fand ich das Knochenmark reich an myeloischen Herden, die auch einen regenerativen Charakter aufwiesen. Einen interessanten Befund bot mir das Knochenmark in den Fällen, in denen ich das Tier, ohne das periphere Blut zu kontrollieren, erst 1—2 Monate nach der Ausführung der Splenektomie, tötete. Dabei fand sich die extremste hyperregenerative Form der histologischen Umwandlung des Knochenmarkes (s. oben; s. das Protokoll 12a u. 12b).

Somit möchte ich aus meinen Splenektomieversuchen beim Frosch folgende Schlüsse ziehen:

1. Die im peripheren Blut kreisenden Leukozyten stammen ausschließlich aus dem myeloischen System.

2. Die Lymphozyten haben nichts mit dem Knochenmarke gemein.

3. Die Milz übt einen hemmenden Einfluß auf die Knochenmarkfunktionen aus; eine Entfernung der Milz hat eine Regeneration des Knochenmarkes zur Folge.

Wenn wir weitere Befunde des Knochenmarkes mit dem Ablauf der Kernverschiebung vergleichen, so sehen wir, daß das periphere Blut des Frosches stets „ein Begleitsymptom des Knochenmarkzustandes ist" (Schilling).

So fand ich z. B. bei der Rana temporaria im Versuch 5, bei der im peripheren Blute eine starke Leukozytose mit „regenerativer" Verschiebung vorhanden war, im Knochenmark eine auffallende Regeneration (vgl. Phot. Nr. 4a und 4b mit Phot. Nr. 8a und 8b). Bei der Rana temporaria (s. Versuch Nr. 9), bei der im peripheren Blute sich eine strakte Eosinophilie entwickelte, befand sich das Knochenmark im Produktionsstadium von eosinophilen Leukozyten verschiedenen Reifungsgrades (s. Phot. Nr. 9); dasselbe Verhalten war bei der Rana esculenta (s. Versuchsprotokoll Nr. 7) festzustellen (s. Knochenmarksbild Nr. 11).

Daß die makrozytäre Kernverschiebung im Blut auch durch eine entsprechende histologische Umwandlung des Knochenmarks bedingt wird, läßt sich aus den Resultaten des Versuches Nr. 1 (vgl. Versuchsprotokoll Nr. 1a, b, c, d, e mit dem Knochenmarksbild Nr. 10) beweisen.

Diesen Überblick über meine Versuchsergebnisse möchte ich dahin zusammenfassen, daß beim Frosch ebenso wie beim Menschen, eine gewisse, sei es physiologische oder pathologische (künstliche), Abhängigkeit zwischen dem Blutbilde und den Blutbildungsstätten besteht, die durchaus nicht auf eine vermehrte Zellproduktion bzw. einen vermehrten Zellverbrauch, sondern auf den histologischen Zustand des hämatopoetischen Apparates zurückzuführen ist.

### Die Oxydasereaktion.

Die Oxydasereaktion zeigte, daß beim Frosch zwei Zellsysteme vorhanden sind. Das eine erweist sich stets negativ, das andere, und zwar das myeloische System hingegen, verhält sich vorwiegend positiv. Dabei muß ich bemerken, daß sie desto sicherer positive Oxydasereaktion zeigt, je reifer die Zelle ist. Die jüngeren myeloischen Elemente, insbesondere die Stammzellen, sind in Bezug auf die Oxydase-

reaktion äußerst unbeständig. Höchst selten kommt es vor, daß die reifen myeloischen Zellen oxydasenegativ sind.

Die Frage, ob das negative Verhalten einer reifen Zelle auf das Fehlen von proteolytischen Fermenten zurückzuführen ist, möchte ich offen lassen, da es nicht zu meinem Thema gehört. Hierzu äußert sich z. B. H. Hirschfeld (10) folgendermaßen:

„Die Oxydasereaktion und proteolytische Fermentwirkung sind nicht stets kombiniert. So haben die eosinophilen Zellen kein proteolytisches Ferment, haben dagegen Oxydase; Milzpulpazellen besitzen proteolytisches Ferment, haben dagegen keine Oxydase; Monozyten haben Oxydase und proteolytisches Ferment, wie Myeloidzellen . . .". „Es gibt sicher Myeloblasten-Leukämien, in welchen die proteolytische Fermentwirkung nicht nachzuweisen war . . ." Bei allen Tieren, die nicht nentrophile Granulationen bilden, sind die Myeloblasten frei von diesem Ferment.

Aus dieser Erwägung heraus, möchte ich in meiner Arbeit von dem Wort „oxydasehaltig" als Ausdruck für eine Positivität der Zelle absehen und statt dessen beim Frosch „reaktionsfähige" und „reaktionsunfähige" Elemente unterscheiden.

Die Lymphozyten des Frosches erwiesen sich stets reaktionsunfähig (oxydasenegativ), die Basophilen, Eosinophilen und „Neutrophilen" dagegen, abgesehen von den oben erwähnten Ausnahmen, als reaktionsfähig (oxydasepositiv).

Da aber diese letzten drei Zellklassen histogenetisch, ebenso wie beim Menschen, auf Grund meiner Untersuchungen als Knochenmarkselemente anzusehen sind, komme ich zu dem Ergebnis, daß die positive Oxydasereaktion als etwas spezifisches für das myeloische System zu betrachten ist.

Ich glaube daher, dieses von dem lymphatischen System des Frosches streng absondern zu müssen.

## Zusammenfassung.

1. Die myeloischen und lymphatischen Elemente des Froschblutes gehören zu zwei selbständigen Systemen.

2. Man kann beim Frosche auf experimentellem Wege eine Kernverschiebung hervorrufen, die, biologisch betrachtet, der Kernverschiebung beim Menschen gleichzusetzen ist.

3. Die jeweilige Zusammensetzung des leukozytären Blutbildes des Frosches ist immer ein morphologischer Spiegel des histologischen Zustandes des Knochenmarkes.

Für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei Beschaffung des Materials und dessen Bearbeitung bin ich Herrn Prof. Dr. V. Schilling zu besonderem Dank verpflichtet.

## Versuchsprotokolle[1]).

**Behandlung mit Terpentinöl** (0,1 ccm Terpentinöl : 1 ccm Paraf. Liquidum).

*Versuch Nr. 1.* (Rana temporaria.)

Das Tier bekam (intramuskulär):

am 14. 10. (1926) = 0,1 ccm
„ 15. 10. „ = 0,2 „
„ 18. 10. „ = 0,2 „
„ 20. 10. „ = 0,2 „
„ 21. 10. „ = Exitus.

Die Ergebnisse:

| Datum | Mbl | Prml | Ink (1) | Myl | Ig | Ink (2) | Vors | Seg | Ink (3) | Eo | B | Ly | Phgz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15. 10. | 2 | 1 | — | — | — | — | 4 | 7 | — | 13 | 15 | 58 | — |
| 18. 10. | 1 | — | — | 4 | 4 | 2 | 28 | 21 | 4 | 2 | 1 | 32 | 2 |
| 20. 10. | 10 | 25 | 1 | 18 | 2 | — | 3 | 8 | 4 | 12 | 8 | 3 | 6 |

*Versuch Nr. 2.* (Rana esculenta.)

Das Tier bekam (subkutan):

am 14. 10. (1926) = 0,2 ccm
„ 15. 10. „ = 0,2 „
„ 18. 10. „ Das Tier wird dekapitiert, das Blut dem Herz entnommen.

Die Ergebnisse:

| Datum | Mbl | Prml | Ink (1) | Myl | Ig | Ink (2) | Vors | Seg | Ink (3) | Eo | B | Ly | Phgz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14. 10. | — | — | — | — | — | — | 7 | 9 | — | 20 | 9 | 55 | — |
| 15. 10. | 7 | 1 | — | — | — | — | 47 | 23 | 12 | 3 | 3 | 4 | — |
| 18. 10. | 1 | — | — | 1 | 1 | — | 41 | 21 | 15 | — | 3 | 7 | 10 |

**Behandlung mit Kolibazillen.** (Eine Öse frischer Kolikultur auf 1 ccm Ringer-scher Lösung.)

*Versuch Nr. 3.* (Rana temporaria.)

Das Tier bekam (intraperitoneal):

am 15. 10. (1926) = 0,25 ccm
„ 20. 10. „ = 0,75 „
„ 25. 10. „ = 0,5 „
„ 27. 10. „ = Exitus.

Die Ergebnisse:

| Datum | Mbl | Prml | Ink (1) | Myl | Ig | Ink (2) | Vors | Seg | Ink (3) | Eo | B | Ly | Phgz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15. 10. | — | 2 | — | — | — | — | 5 | 6 | 2 | 15 | 12 | 57 | — |
| 20. 10. | — | — | — | 8 | 7 | 1 | 30 | 22 | 1 | 7 | 5 | 19 | — |
| 23. 10. | 1 | — | — | 4 | 2 | — | 53 | 18 | 6 | 3 | 2 | 11 | — |
| 26. 10. | 31 | 46 | 3 | 12 | — | 1 | — | — | — | 6 | — | 1 | — |

[1]) Es werden nur auffallende Verschiebungsphasen angegeben.

*Versuch Nr. 4.* (Rana esculenta):

Das Tier bekam (intraperitoneal):

am 15. 10. (1926) = 0,5 ccm
„ 20. 10. „ = Exitus.

Die Ergebnisse:

| Datum | Mbl | Prml | Ink (1) | Myl | Ig | Ink (2) | Vors | Seg | Ink (3) | Eo | B | Ly | Phgz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15. 10. | — | 1 | — | — | — | — | 5 | 33 | — | 16 | 8 | 37 | — |
| 20. 10. | 6 | 8 | 5 | 12 | 29 | 6 | 2 | 5 | — | 1 | 8 | 15 | 5 |

**Kombinierte Behandlung mit Thyreolutal und Kolibazillen.**

*Versuch Nr. 5.* (Rana temporaria.)

Das Tier bekam (in den Lymphsack):

am 1. 11. (1926) = 0,85 ccm
„ 4. 11. „ = 1 „
„ 8. 11. „ = 1 „
„ 10. 11. „ = 1 „
„ 13. 11. „ = 0,5 „
„ 16. 11. „ = 0,5 „
„ 22. 11. „ = 1 „ Kolikulturbazillen (1 Öse auf 2 ccm Ringersche Lösung) intraperitoneal.
„ 2. 12. „ wird das Tier wegen der hochgradigen Anämie dekapitiert.

Die Ergebnisse:

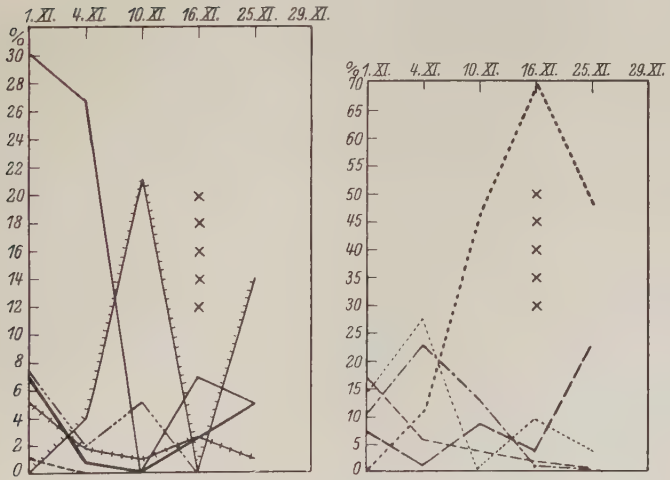



Abb. 1. (Versuch Nr. 5.)

Am 29. 11. 1926 entwickelte sich eine sehr starke Hyperleukozytose, die mit einer regenerativen Kernverschiebung einherging. (Die exakte Feststellung der Zahlenverhältnisse einzelner Zellen war unmöglich.)

**Behandlung mit Caseosan.**

*Versuch Nr. 6.* (Rana temporaria.)
Das Tier bekam (intramuskulär):

am 17. 12. (1926) = 0,5 ccm
„ 18. 12. „ = 0,5 „
„ 27. 12. „ = 0,5 „
„ 31. 12. „ = 1 „
am 5. 1. (1927) = 1 ccm
„ 13. 1. „ = 1 „
„ 15. 1. „ = 1 „
„ 16. 1. „ = Exitus.

Die Ergebnisse:

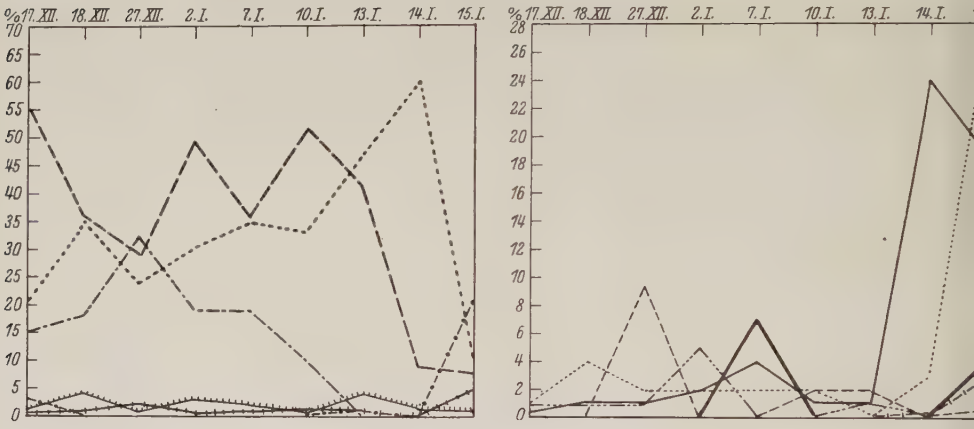



Abb. 2. (Versuch Nr. 6.)

*Versuch Nr. 7.* (Rana esculenta):
Das Tier bekam (intramuskulär):
am 7. 6. (1927) = 1 ccm, am 9. 6. (1927) = 1 ccm.

| Datum | Mbl | Prml | Ink (1) | Myl | Ig | Ink (2) | Vors | Seg | Ink (3) | Eo | B | Ly | Phgz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7. 6. | 1 | - | - | 6 | 6 | 1 | 5 | 1 | — | 6 | 1 | 73 | — |
| 8. 6. | 10 | 5 | 1 | 6 | 18 | 3 | - | - | - | 4 | 12 | 31 | 10[1]) k |
| 9. 6. | 10 | 2 | 1 | 6 | 10 | 2 | 2 | — | — | 2 | 1 | 34 | 30[1]) k |
| 11. 6. | 13 | 12 | 1 | 15 | 9 | 1 | — | — | — | 14 | 7 | 6 | 22[1]) k |

**Kombinierte Behandlung mit Thyreolutal, Terpentinöl und anschließender Splenektomie.**

*Versuch Nr. 8.* (Rana temporaria.)
Das Tier bekam:

am 21. 12. (1926) = 0,5 ccm Thyreolutal (intramuskulär)
„ 27. 12. „ = 0,5 „ „
„ 31. 12. „ = 0,5 „ „
„ 5. 1. (1927) = 0,5 „ „
„ 6. 1. „ = 0,5 „ Terpentinöl (intraperitoneal)
„ 13. 1. „ = 0,2 „ „
„ 21. 1. „ = 0,3 „ „
„ 1. 2. „ = Splenektomie.

[1]) k = Phagozyten mit Kurloffähnlichen Einschlüssen.

Die Ergebnisse:

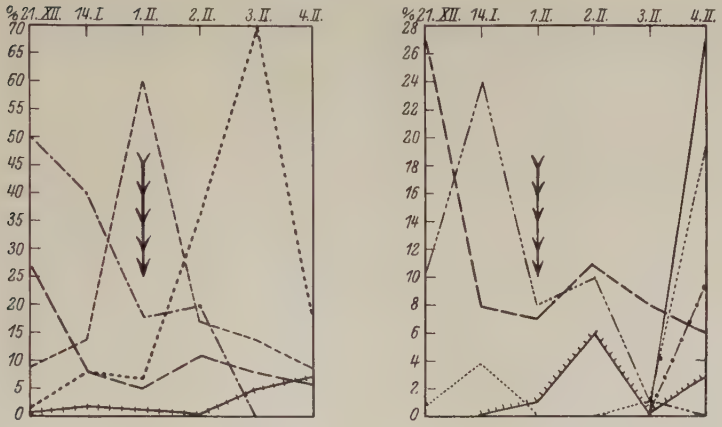



Abb. 3. (Versuch Nr. 8.)

**Kombinierte Behandlung mit Thyreolutal, Terpentinöl u. anschließender Splenektomie.**

*Versuch Nr. 9.* (Rana temporaria.)

Das Tier bekam:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| am | 29. 11. | (1926) | 1 ccm | Thyreolutal | (intramuskulär) |
| „ | 2. 12. | „ | 1 „ | „ | „ |
| „ | 8. 12. | „ | 1 „ | „ | „ |
| „ | 13. 12. | „ | 1 „ | „ | „ |
| „ | 15. 12. | „ | 1 „ | „ | „ |
| „ | 21. 12. | „ | 1 „ | „ | „ |
| „ | 27. 12. | „ | 0,1 „ | Terpentinlöl | (in den Lymphsack) |
| „ | 29. 12. | (1927) | 0,1 „ | „ | „ „ „ |
| „ | 2. 1. | „ | 0,2 „ | „ | „ „ „ |
| „ | 4. 1. | „ | 0,2 „ | „ | „ „ „ |
| „ | 15. 1. | „ | 0,25 „ | „ | „ „ „ |
| „ | 1. 2. | „ | Splenektomie. | | |
| „ | 3. 2. | „ | Exitus. | | |

Die Ergebnisse:

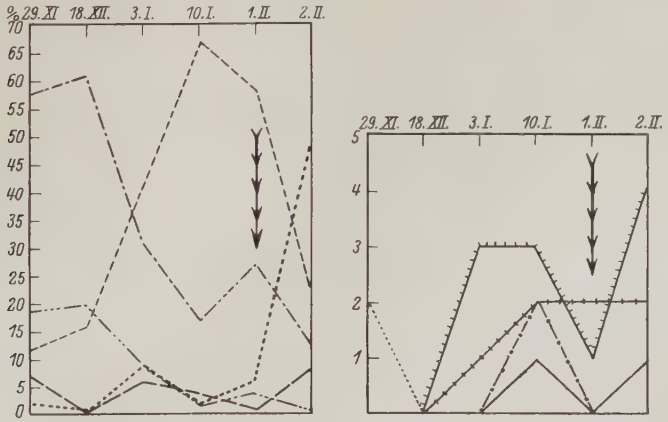



Abb. 4. (Versuch Nr. 9.)

**Absolute Behandlung mit Splenektomie.**

*Versuch Nr. 10.* (Rana esculenta.)
am 20. 6. (1927) zeigt die Kurve das Blutbild vor der Splenektomie.
vom 21. 6.—29. 6. zeigen die Kurven die Blutbilder nach der Splenektomie.

Die Ergebnisse:

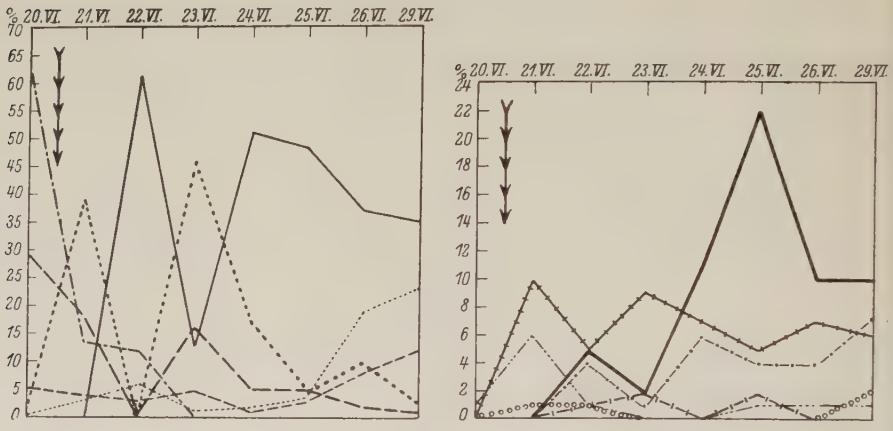



Abb. 5. (Versuch Nr. 10.)

Myeloblast (Mbl.)
Promyelozyt (Prml.)
Myelozyt (Myl.)
Jugendliche (Jg.)
Vorsegmentierte (Seg.)
Segmentierte (Seg.)
Eosinophile (Eo).
Basophile (B.)

Lymphozyten (Ly.)
Phagozyten (Phgz.)
Ink. I
Ink. II } [1])
Ink. III
Splenektomie
Injektion von Kolibazillen.

## Erklärung zu den Mikrophotogrammtabellen. (Tafel 5, 6 und 7.)

*Photogr. Nr. 1 (a).*
Das Blutbild der Rana temporaria.
A. Gr. Myelozyt, B. Mittelgr. Myelozyt, C. Mittelgr. Myelozyt, D. Segmentkernige Neutroph.

*Nr. 1 (b).*
A. Gr. Promyelozyt, B. Mittelgr. Promyelozyt, C. Mittelgr. Myelozyt.

*Nr. 1 (c).*
A. Mittelgr. Myelozyt, B. Eosinophiler L. (etwas zerquetscht) mit unreifen Granula.

*Nr. 1 (d).*
Jugendl. neutr. L.

*Nr. 1 (e).*
Inkongruenzzelle I.

1) Ink.: Inkongruenzzelle.

*Photogr. Nr. 2 (a).*
Das Blutbild der Rana esculenta.
A. Promyelozyt, B. Vorsegmentierter, C. Inkongruenzzelle 3, D. Zwillingskern.

*Nr. 2 (b).*
A. Myeloblast, B. Inkongruenzzelle 3, C. zwei Segmentkernige.

*Nr. 2 (c).*
Links segmentkernige L., rechts drei Vorsegmentierte.

*Nr. 2 (d).*
Jugendlicher eos. L.

*Nr. 2 (e).*
Myeloblast.

*Nr. 2 (f).*
Von links nach rechts: Kleiner Myeloblast, segmentierter Neutroph. und daneben großer Myeloblast.

*Nr. 2 (g).*
Hochsegmentierter neutroph. L. (eine Tochterzelle).

*Nr. 2 (i).*
A. Promyelozyt (monozyt. Typus), B. Vorsegmentierter, C. zerquetschter Phagozyt.

*Nr. 2 (k).*
A. Eosinoph. Myelozyt und 5 Inkongruenzzellen der oxyphilen Gruppe.

*Photogr. Nr. 3 (a).*
Das Blutbild der Rana temporaria.
A. Froschtryponasom, B. Inkongruenzzelle 3.

*Nr. 3 (b), 3 (c).*
Die Blutbilder vor dem Exitus. Eine starke Leukozytose mit einer regenerativen Kernverschiebung. In 3 (b) s. Inkongruenzzellen 2; in 3 (c) zeigen viele Zellen die Degenerationserscheinungen.

*Nr. 3 (d).* (Ebenso vor dem Exitus.)
A. Promyelozyt, B. Myelozyt, C. Jugendlicher, D. Inkongruenzzelle 2, E. Inkongruenzzelle 1.

*Photogr. Nr. 4 (a).*
Das Blutbild der Rana temporaria.
A. Jugendlicher, B. Promyelozyt, C. Myeloblast, D. Vorsegmentierter, E. Myelozyt, F. Inkongruenzzelle 3.

*Nr. 4 (b).* Das Blutbild vor dem Exitus.
Eine starke Leukozytose mit einer regenerativen Kernverschiebung.

*Photogr. 5 (a).*
Das Blutbild (aus dem Herzen entnommen!) der Rana temporaria. Kolibazillen und degenerativ veränderte Zellen.

*Nr. 5 (b).*
Milztupfpräparat von demselben Frosch nach Behandlung mit Kolibazillen.

*Photogr. Nr. 6.*
Milztupfpräparat.

*Photogr. Nr. 7.*
Knochenmarkstupfpräparat (Rana esculenta), von einem Winterfrosch.
A. Myeloblast, B. Eos. Myelozyt. Regeneratives Knochenmark.

*Photogr. Nr. 8 (a).*
Regeneratives Knochenmark (Rana temporaria).

*Nr. 8 (b).*
Dasselbe Knochenmark.

*Photogr. Nr. 9.*
Das Knochenmark von Rana esculenta. Eine enorme Produktion von Eosinophilen. Die Granula weisen noch ihren unreifen Zustand, der sich durch seine Dunkelheit dokumentiert, auf.

*Photogr. Nr. 10.*
Das Knochenmark der Rana temporaria. Ein hyporegeneratives Knochenmark mit hypertrophischen Zellen.

*Photogr. Nr. 11.*
Das Knochenmark der Rana esculenta. Analoge Erscheinung wie unter Nr. 9.

*Photogr. Nr. 12 (a).*
Das Knochenmark der Rana esculenta. Die extremste Form einer Regeneration von Knochenmark . . . . Bildung von Erythrogonien und Myelogonien. In der Mitte des Bildes sehen wir die Zelle, die ihren lymphoiden Charakter beibehalten hat, in perinukleärer Zone aber läßt sie kleine, unreife eosinophile Granula erkennen. Links oben sehen wir eine Zelle mit einem plumpen wurstförmigen Kern, dessen Kernstruktur noch ziemlich jugendlich ist, das Plasma aber das Stadium der begonnenen Plasmatisierung zeigt.

*Nr. 12 (b).*
Dasselbe Knochenmark. Rechts unten eine Zelle in der Prophase.

## Literaturverzeichnis.


1. Arneth, Qualitative Leukozytose.
2. J. Arnold, Zur Morphologie und Biologie der Zellen des Knochenmarks. Virchows Arch. 1895, Bd. 140.
3. Bizzozero, Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. Virchows Arch. 1882, Bd. 90.
4. Dekhuyzen, Über das Blut der Amphibien. Verh. d. anat. Ges. in Wien, 1892.
5. Freidsohn, Zur Morphologie des Amphibienblutes. Zugleich ein Beitrag zur Lehre von der Differenzierung der Lymphozyten. Arch. mikrosk. Anat. Hrsg. von Hertwig und Waldeyer in Berlin. 1910, Bd. 75, H. 3, S. 435.
6. L. Gordon, Untersuchungen über die Spindelzellen im Blute von Tieren mit kernhaltigen Blutzellen, ihre eigentliche Gestalt, Abstammung und funktionelle Bedeutung. Virchows Arch. 1926, Bd. 262, H. 1.
7. Grünberg, Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leukozyten. Virchows Arch. 1891, Bd. 163.
8. Hammerschlag, Prinzipien der Leukozytengruppierung zu klinischen Zwecken. Dtsch. med. Wschr. 1924, H. 29, S. 985.
9. Hayem, I. Recherches sur l'évolution des Hématies dans le sang de l'homme et des vertebrés. — II. Sang des vertebrés à globules rouges nuclées. Arch. de Physiol. norm. et path. 1879, p. 201.
10. Hirschfeld, Der gegenwärtige Stand der Lehre von der Herkunft der Blutzellen. Fol. haemat. Bd. 11, T. 2. „Monographien" S. 212.
11. Hirschfeld-Kassmann, Beitrag zur vergleichenden Morphologie der weißen Blutkörperchen. Inaug.-Diss. Berlin 1908.
12. Manuchin, Über Leukozyten. Fol. haem. Bd. 11, S. 41.
13. Maximow, Über embryonale Entwicklung der Blutzellen bei Amphibien und Selachiern. Fol. haemat. Bd. 11, S. 58.
14. Müller, Zur Frage der Blutbildung. Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. Wiss. Wien. Math.-nat. Kl. Bd. 98, Abt. 3.
15. Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 1923, 4. Aufl.
16. Neumann, Blut und Pigmente. Gesammelte Abhandlungen. Jena 1917.
17. Neumann, Die Spindelzellen des Amphibienblutes. Arch. mikrosk. Anat. 1910 u. 1911, Bd. 76, S. 725.

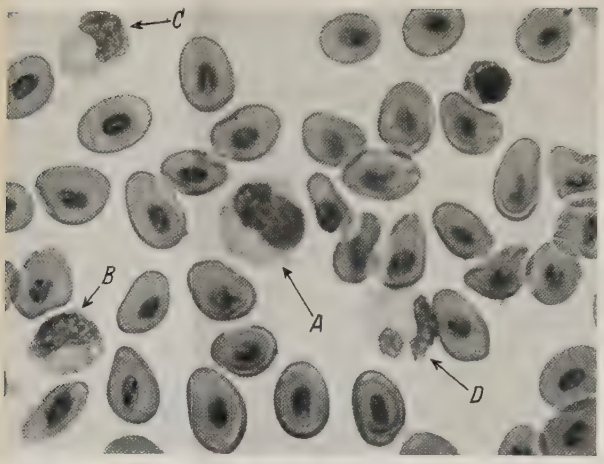
18. Pappenheim, Einige interessante Tatsachen und theoretische Ergebnisse der vergleichenden Leukozytenmorphologie. Fol. haemat. 1909, Bd. 8, S. 505.
19. Pappenheim, Hämatologische Bestimmungstafel. Hrsg. von Hirschfeld, Leipzig 1920.
20. Pentimalli, Über die Zahlenverhältnisse der weißen Blutkörperchen bei Amphibien in den verschiedenen Zuständen. Internat. Wschr. f. Anat. u. Physiol.
21. Proescher, Über experimentelle Lymphozytämie beim Frosch. Fol. haemat. 1904, Bd. 1.
22. Schilling, Das Blutbild und seine klinische Verwertung.
23. Schilling, Das Knochenmark als Organ. Dtsch. med. Wschr. 1925, H. 7, S. 261; H. 9, S. 344; H. 12, S. 467; H. 13; S. 516; H. 15, S. 598.
24. Schilling, Über Kurloffsche Körperchen bei Meerschweinchen. Fol. haemat. Bd. 7.
25. Weidenreich, Die Leukocyten und verwandte Zellformen. Wiesbaden 1911.
26. Werzberg, Studien zur vergleichenden Hämozytologie einiger poikilothermer Vertebraten. Fol. haemat. Bd. 11.
27. Zieler, Zur Morphologie des Froschblutes. Path.-anat. Arbeiten von Geh. Med.-Rat Joh. Orth 1903, S. 299.

## Lebenslauf.

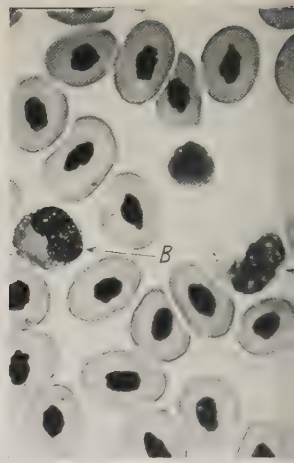
Ich bin am 4. XI. 1902 in Port Artur als Sohn eines Arztes geboren. Während des russisch-japanischen Krieges übersiedelte ich mit meinen Eltern nach Wladiwostok, wo ich im Mai 1921 das klassische Gymnasium absolvierte. Vom 1. IX. 21 bis 10. IV. 22 besuchte ich als ordentlicher Studierender die orientalische Fakultät der staatlichen Universität des Fernen Ostens zu Wladiwostok. Im Jahre 1922 kam ich nach Deutschland, wo ich vom S. S. 1923 bis W. S. 1927/1928 ununterbrochen an der medizinischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin studierte. Im Jahre 1929 habe ich in Berlin mein medizinisches Staatsexamen gemacht.

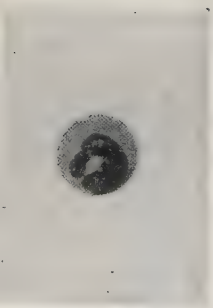
Meine Lehrer waren:

Prof. Sauerbruch, Prof. Fick, Prof. Hausschild, Prof. Pringsheim, Prof. Schlenk, Prof. Keibel, Prof. Hoffmann, Prof. Marckwaldt, Prof. Heider, Prof. Pohl, Prof. Diels, Prof. Brugsch, Prof. Freund, Prof. Franz, Prof. Burghardt, Prof. Klemperer, Prof. Levin, Prof. Borchart, Prof Schilling, Prof. Bonhoeffer, Prof. Arndt, Prof. Brühl, Prof. Lubarsch, Prof. Hahn, Prof. Siedamgrotzky, Prof. Pracht, Prof. Greef, Prof. v. Eicken, Prof. Gocht, Prof. Heymann, Prof. Czerny, Prof. Klapp, Prof. Kopsch, Prof. B. Zondek.

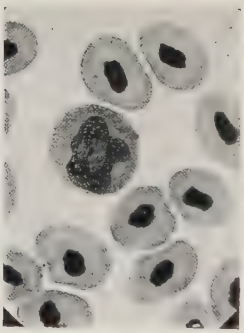



1 (a)

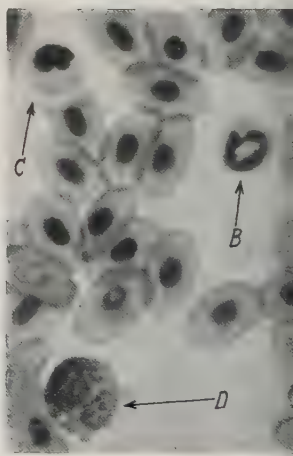


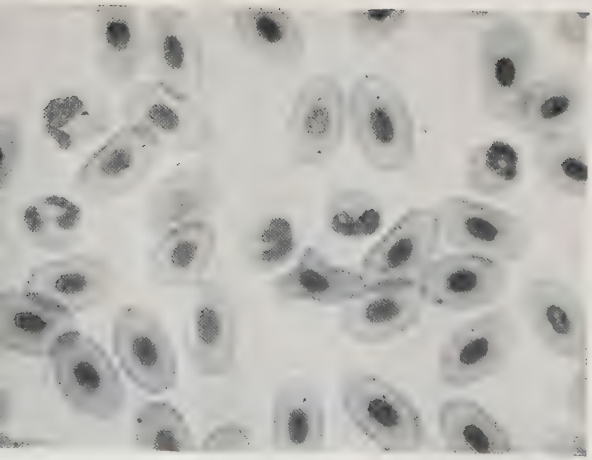



1 (d)

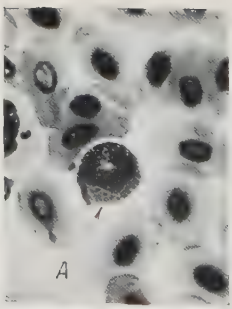


1 (e)



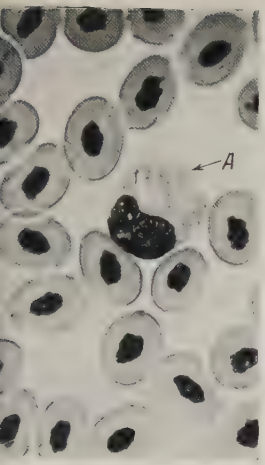



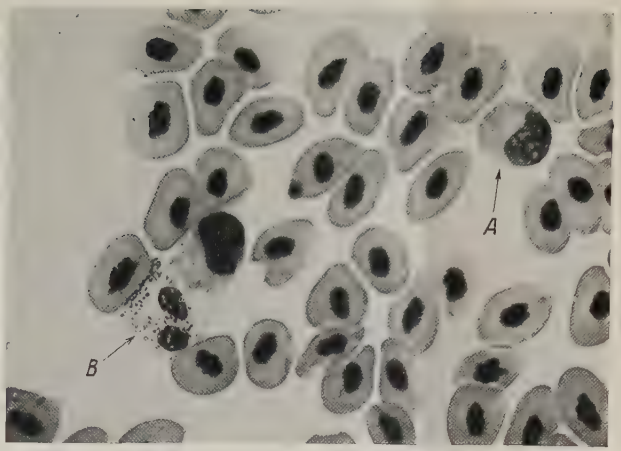
2 (c)



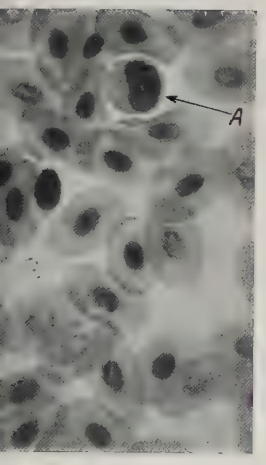

2 (d)

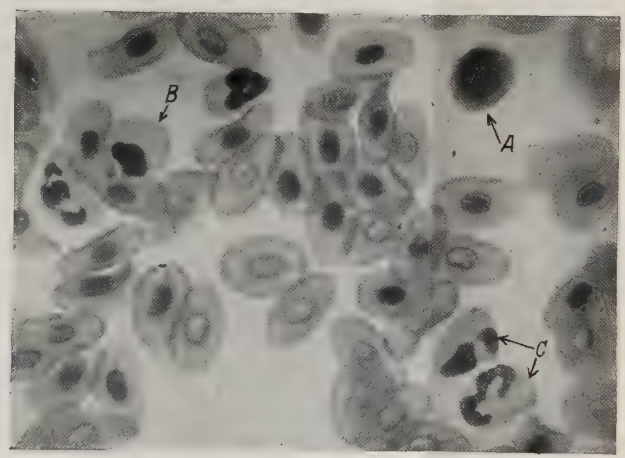
Tischtschenko.



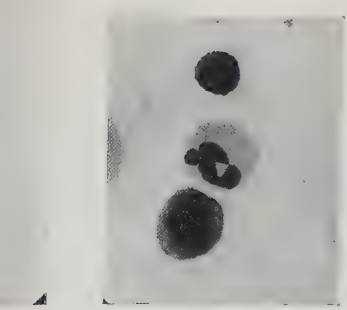




1 (c)

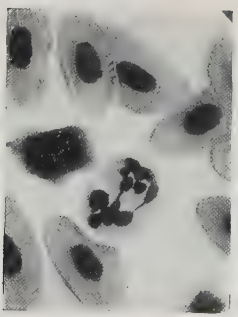


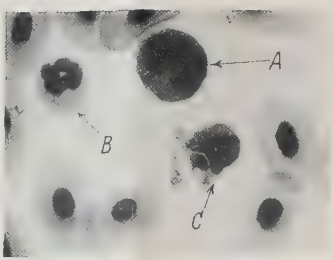

2 (b)



2 (f)



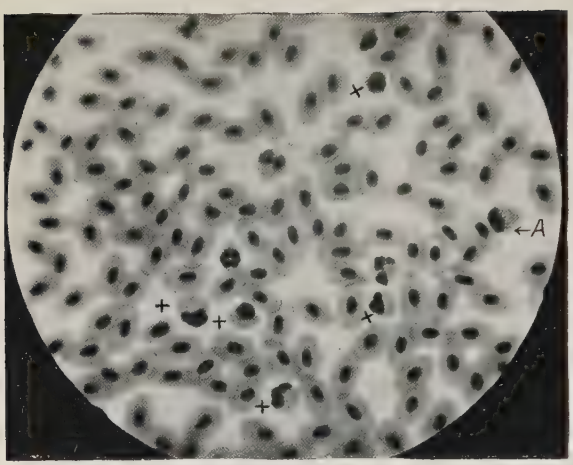
2 (g)

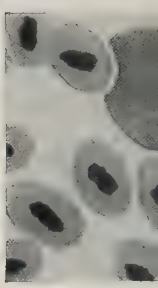



2 (i)

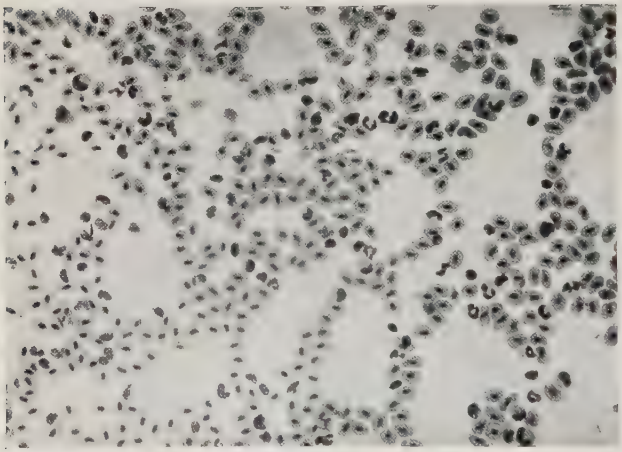
schaft m. b. H. Leipzig.

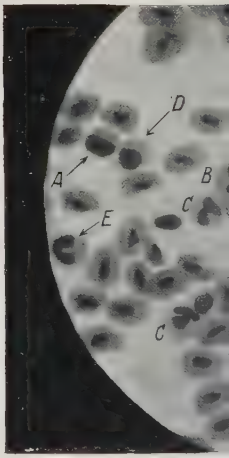
Buchdruck von August Pries, Leipzig.



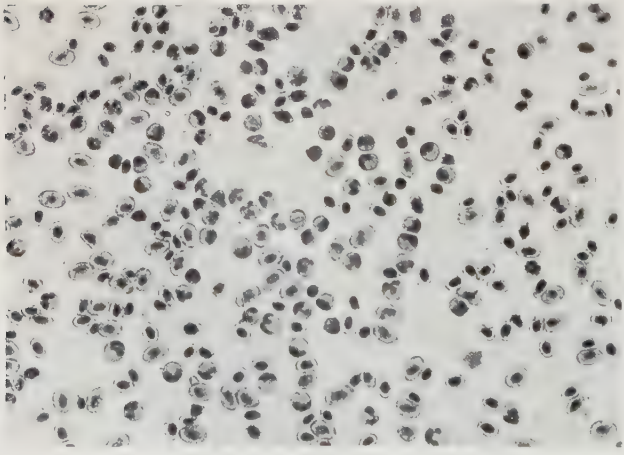



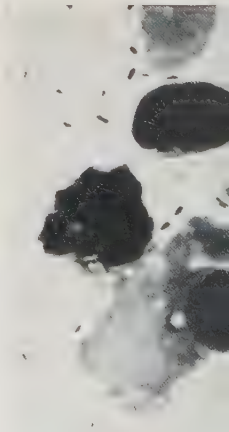
2 (k)



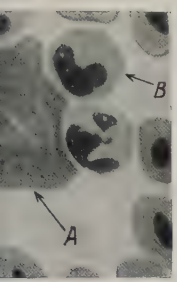


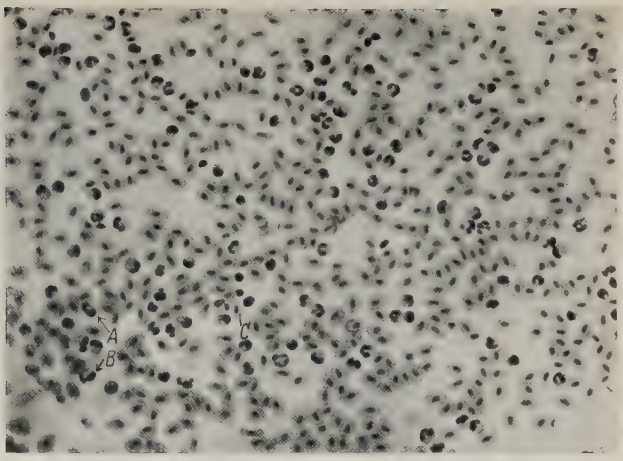

3 (c)



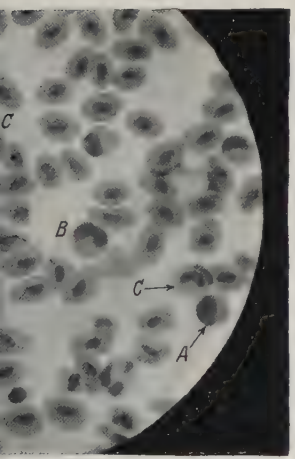


4 (b)

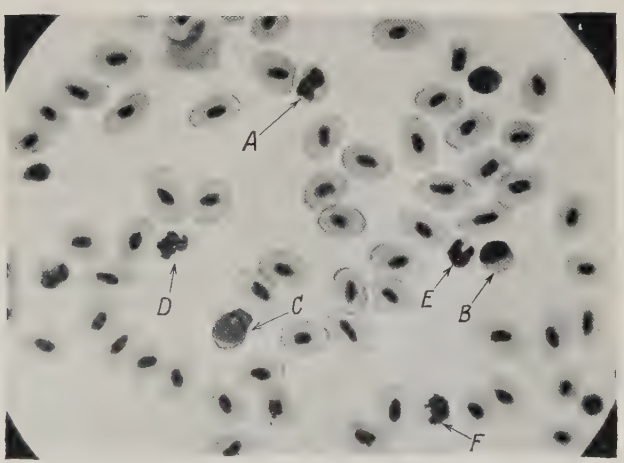


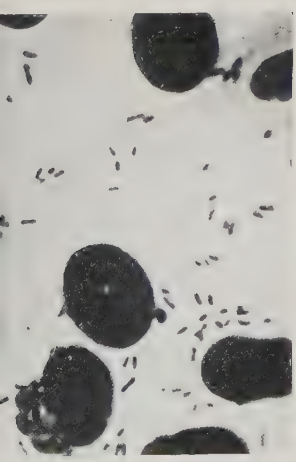

3 (b)



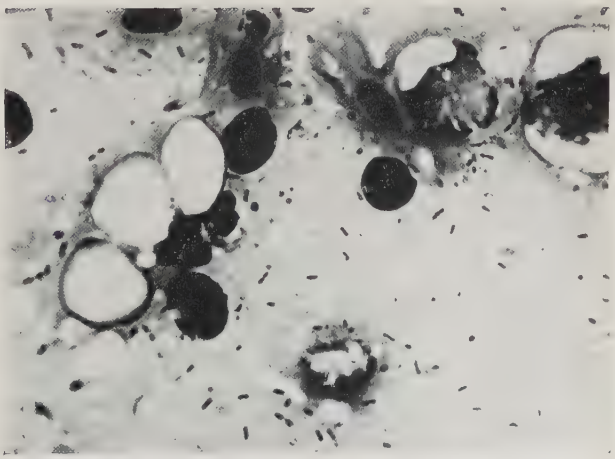

)




4 (a)



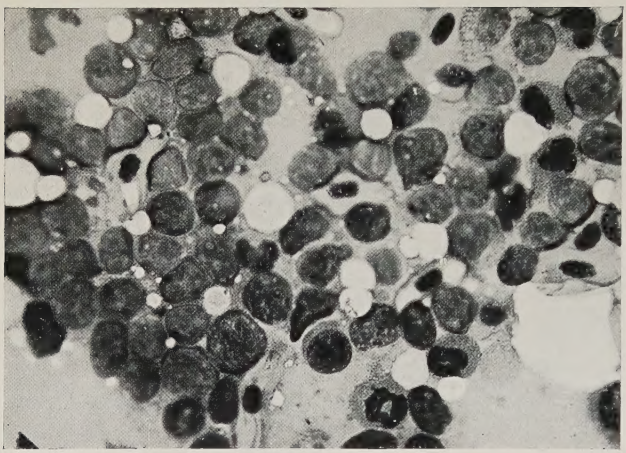
)



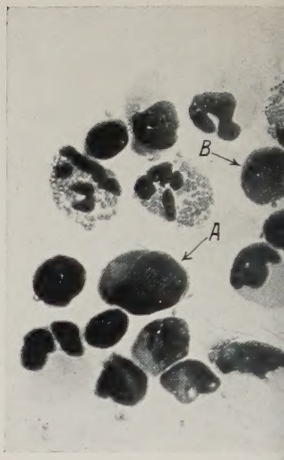
5 (b)

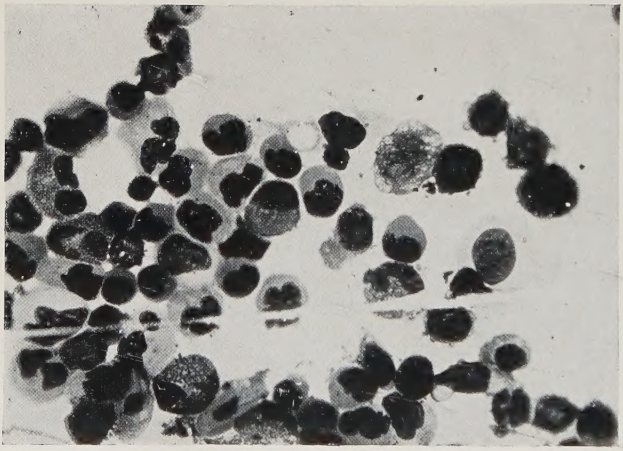
chaft m. b. H. Leipzig.

Buchdruck von August Pries, Leipzig.

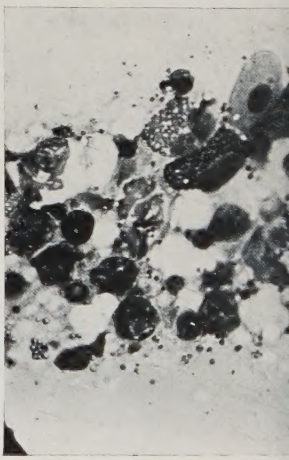


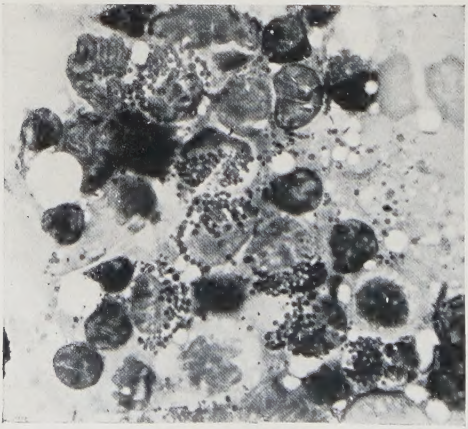
6



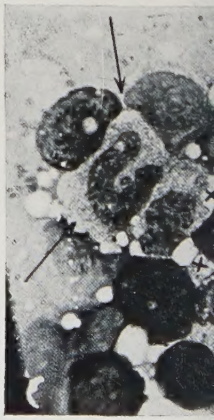



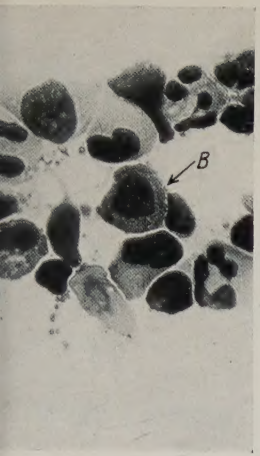
8 (b)

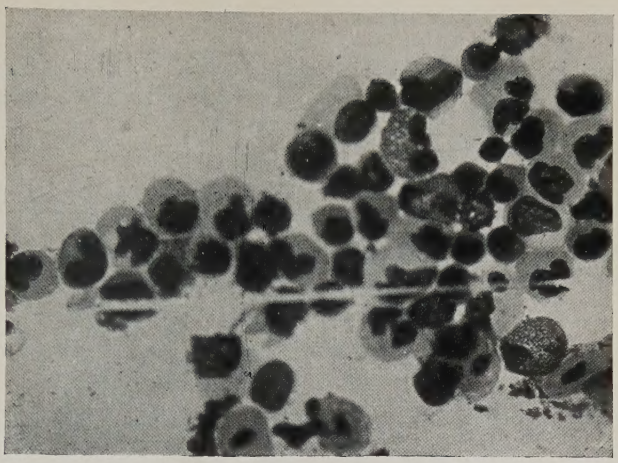




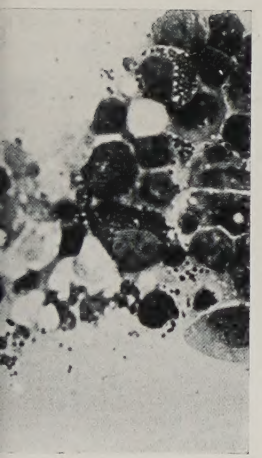
11

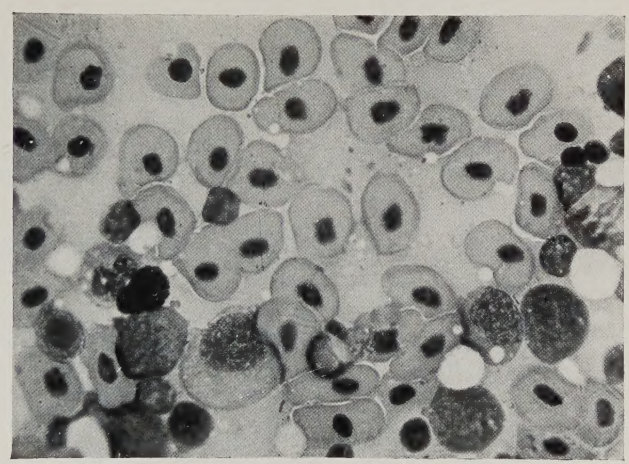




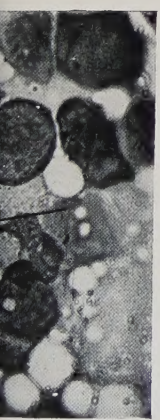



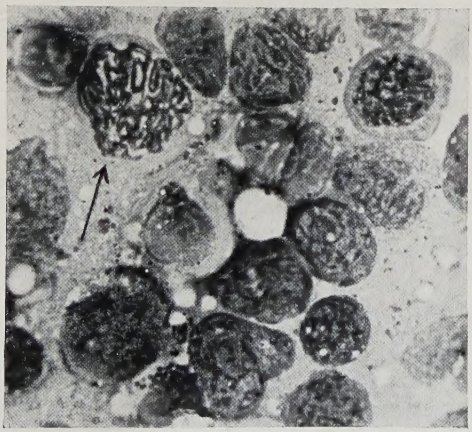
8 (a)





10





12 (b)

m. b. H. Leipzig.

Buchdruck von August Pries, Leipzig.